

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing: 26 November 1998 (26.11.98)	
International application No.: PCT/JP98/02171	Applicant's or agent's file reference: 660807
International filing date: 18 May 1998 (18.05.98)	Priority date: 23 May 1997 (23.05.97)
Applicant: ENDO, Hitoshi et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:
28 September 1998 (28.09.98)☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:
_____2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer: J. Zahra Telephone No.: (41-22) 338.83.38
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------

PCT

EP



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 660807	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/02171	国際出願日 (日.月.年) 18.05.98	優先日 (日.月.年) 23.05.97
出願人(氏名又は名称) 遠藤 仁		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

- ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。
- ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。
- ☒ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。
 - ☐ この国際出願と共に提出されたもの
 - ☒ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの
 - ☒ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない
 - ☐ この国際調査機関が書換えたもの
- 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

- 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。
- 要約書とともに公表される図は、
 第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ C12N15/12, 15/63, C07K14/47, 16/18, C12Q1/68,
C12P21/08

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ C12N15/12, 15/63, C07K14/47, 16/18, C12Q1/68,
C12P21/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
SwissProt/PIR/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Lopez-Nieto, C. E., et al. "Molecular cloning and characterization of NKT, a gene product related to the organic cation transporter family that is almost exclusively expressed in the kidney", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 10 (07. 03. 1997), pp. 6471-6478	1-17
X A	Adams, M. D., et al. "Rapid cDNA sequencing (expressed sequence tags) from a directionally cloned human infant brain cDNA library", Nature Genetics, Vol. 4, No. 4 (1993), pp. 373-380	1-16 17
X A	Adams, M. D., et al. "Complementary DNA Sequencing: Expressed Sequence Tags and Human Genome Project", Science, Vol. 252, No.	1-16 17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07. 08. 98

国際調査報告の発送日

18.08.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

村上 騎見高



4B

8827

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	5013(1991), pp. 1651-1656	
X A	Adams, M. D., et al. "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence", Nature, Vol. 377, No. 6547 Suppl. (1995), pp. 3-174	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; AA269606 514bp mRNA EST 26-MAR-1997, ACCESSION; AA269606, Marra, M., et al. "DEFINITION va61f06.r1 Soares mouse 3NME12 5 Mus musculus cDNA clone 735875 5' similar to TR:G1293672 G1293672 KIDNEY-SPECIFIC TRANSPORT PROTEIN. ; mRNA sequence."	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; AA124333 501bp mRNA EST 13-FEB-1997, ACCESSION; AA124333, Marra, M., et al. "DEFINITION mq28a09.r1 Barstead MPLRB1 Mus musculus cDNA clone 580024 5' similar to TR:G1293672 G1293672 KIDNEY-SPECIFIC TRANSPORT PROTEIN. ; mRNA sequence."	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; W34761 368bp mRNA EST 13-MAY-1996, ACCESSION; W34761, Marra, M., et al. "DEFINITION mc60h03.r1 Soares mouse embryo NbME13.5 14.5 Mus musculus cDNA clone 35249.5', mRNA sequence."	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; R25797 430bp mRNA EST 24-APR-1995, ACCESSION; R25797, Hillier, L., et al. "DEFINITION yg54b04.r1 Soares infant brain 1NIB Homo sapiens cDNA clone 36482 5', mRNA sequence."	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; R46796 396bp mRNA EST 22-MAY-1995, ACCESSION; R46797, Hillier, L., et al. "DEFINITION yg54b04.s1 Soares infant brain 1NIB Homo sapiens cDNA clone 36482 5', mRNA sequence."	1-16 17
P, X	Sekine, T., et al. "Expression cloning and characterization of a novel multispecific organic anion transporter.", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 30 (25. 07. 1997), pp. 18526-18529	1-17
P, X	Wolff, N. A., et al. "Expression cloning and characterization of a renal organic anion transporter from winter flounder.", FEBS Letters, Vol. 417, No. 3 (17. 11. 1997), pp. 287-291	1-17
P, X	Sweet, D. H., et al. "Expression cloning and characterization of ROAT1. The basolateral organic anion transporter in rat kidney.", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 48 (28. 11. 1997), pp. 30088-30095	1-17
P, X P, Y	Mori, K., et al. "Kidney-specific expression of a novel mouse organic cation transporter-like protein.", FEBS Letters, Vol. 417, No. 3 (17. 11. 1997), pp. 371-374	1-16 17



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 C12N 15/12, 15/63, C07K 14/47, 16/18, C12Q 1/68, C12P 21/08</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO98/53064</p> <p>(43) 国際公開日 1998年11月26日(26.11.98)</p>		
<table border="1"> <tr> <td data-bbox="56 348 776 1035"> <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/02171</p> <p>(22) 国際出願日 1998年5月18日(18.05.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/134182 1997年5月23日(23.05.97) JP</p> <p>(71) 出願人 ; および (72) 発明者 遠藤 仁(ENDOU, Hitoshi)[JP/JP] 〒229-0022 神奈川県相模原市由野台1丁目23-7 Kanagawa, (JP)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 田辺製薬株式会社(TANABE SEIYAKU CO., LTD.)(JP/JP) 〒541-8505 大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 金井好克(KANAI, Yoshikatsu)[JP/JP] 〒193-0932 東京都八王子市緑町214-102 Tokyo, (JP) 関根孝司(SEKINE, Takashi)[JP/JP] 〒190-0003 東京都立川市栄町1丁目10-47 Tokyo, (JP) 細山田真(HOSOYAMADA, Makoto)[JP/JP] 〒181-0013 東京都三鷹市下連雀3丁目42-4-301 Tokyo, (JP)</p> </td> <td data-bbox="776 348 1471 1035"> <p>(74) 代理人 弁理士 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> </td> </tr> </table>			<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/02171</p> <p>(22) 国際出願日 1998年5月18日(18.05.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/134182 1997年5月23日(23.05.97) JP</p> <p>(71) 出願人 ; および (72) 発明者 遠藤 仁(ENDOU, Hitoshi)[JP/JP] 〒229-0022 神奈川県相模原市由野台1丁目23-7 Kanagawa, (JP)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 田辺製薬株式会社(TANABE SEIYAKU CO., LTD.)(JP/JP) 〒541-8505 大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 金井好克(KANAI, Yoshikatsu)[JP/JP] 〒193-0932 東京都八王子市緑町214-102 Tokyo, (JP) 関根孝司(SEKINE, Takashi)[JP/JP] 〒190-0003 東京都立川市栄町1丁目10-47 Tokyo, (JP) 細山田真(HOSOYAMADA, Makoto)[JP/JP] 〒181-0013 東京都三鷹市下連雀3丁目42-4-301 Tokyo, (JP)</p>	<p>(74) 代理人 弁理士 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/02171</p> <p>(22) 国際出願日 1998年5月18日(18.05.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/134182 1997年5月23日(23.05.97) JP</p> <p>(71) 出願人 ; および (72) 発明者 遠藤 仁(ENDOU, Hitoshi)[JP/JP] 〒229-0022 神奈川県相模原市由野台1丁目23-7 Kanagawa, (JP)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 田辺製薬株式会社(TANABE SEIYAKU CO., LTD.)(JP/JP) 〒541-8505 大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 金井好克(KANAI, Yoshikatsu)[JP/JP] 〒193-0932 東京都八王子市緑町214-102 Tokyo, (JP) 関根孝司(SEKINE, Takashi)[JP/JP] 〒190-0003 東京都立川市栄町1丁目10-47 Tokyo, (JP) 細山田真(HOSOYAMADA, Makoto)[JP/JP] 〒181-0013 東京都三鷹市下連雀3丁目42-4-301 Tokyo, (JP)</p>	<p>(74) 代理人 弁理士 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーロパ特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>			
<p>(54)Title: ORGANIC ANION TRANSPORTER AND GENE CODING FOR THE SAME</p> <p>(54)発明の名称 有機陰イオントランスポーターおよびその遺伝子</p> <p>(57) Abstract A protein capable of transporting organic anions having amino acid sequences represented by SEC ID NO:1 or 2 or amino acid sequences derived therefrom by deletion, substitution or addition of one or more amino acid residues; and a gene coding for the protein. The protein and gene therefor are useful for <i>in vitro</i> analysis of drug release and drug-drug interactions and development of methods for screening drugs useful for preventing nephrotoxicity.</p>				

(57)要約

配列番号1または2で示されるアミノ酸配列、または該配列番号1または2で示されるアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなる有機陰イオンを輸送する能力を有する蛋白質、該蛋白質をコードする遺伝子。これらは薬物排出や薬物と薬物との相互作用のインビトロ分析、または腎毒性防止に有用な薬物のスクリーニング方法の開発に有用である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AM	アルメニア	FR	フランス	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AT	オーストリア	GA	ガボン	LT	リトアニア	SN	セネガル
AU	オーストラリア	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	ML	マリ	UA	ウクライナ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア	US	米国
CA	カナダ	ID	インドネシア	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CC	中央アフリカ	IE	アイルランド	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CG	コンゴ	IL	イスラエル	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CH	スイス	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CI	コートジボアール	IT	イタリア	NO	ノルウェー		
CM	カメルーン	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CN	中国	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CY	キプロス	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
CZ	チェコ	KR	韓国	RU	ロシア		
DE	ドイツ	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
DK	デンマーク	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		
ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア		

5/ PRTS

明 細 書

有機陰イオントランスポーターおよびその遺伝子

5 技術分野

本発明は腎臓における有機陰イオンの輸送に関与する遺伝子と、その遺伝子がコードするポリペプチドに関する。

背景技術

10 腎臓は、生体異物や薬物の体外への排出に関して、重要な役割を果たしている。アニオン性の薬物は、担体を介した経路で腎臓近位尿細管から尿中へ排出されている。このような有機陰イオンの排出は、尿細管細胞がその側底膜を介して、有機陰イオンを尿細管周囲の血液から取り込むことから始まる。

15 側底膜における有機陰イオンの取り込みについては、例えば基質の有機陰イオンとしてパラアミノ馬尿酸を使い、摘出臓器かん流法や単離細胞膜小胞系などを用いた実験により研究されてきた。この研究の中で、有機陰イオンの取り込みには、有機陰イオントランスポーターが関与していること、また、側底膜における有機陰イオンの取り込みは、有機アニオンとジカルボン酸の交換輸送体によって介されと考えられてきた。

20 しかし、従来の手法では、尿細管における輸送機構の詳細、例えばトランスポーター間での輸送のネットワークや腎排泄過程における薬物間の相互作用などを解析することは困難であり、有機陰イオントランスポーターの遺伝子を単離して詳細な機能解析を可能とすることが望まれていた。

25 肝臓で発現している有機陰イオントランスポーター遺伝子については、

種々の分子種がクローニングされている(Hagenbuchら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第88巻、10629頁、1991年; Jacqueminら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、第91巻、133頁、1994年)。また、腎臓および肝臓に発現する有機陽イオントランスポーターの一つであるOCT 1の遺伝子クローニングが報告されてい(Grundemannら、Nature、第372巻、549頁、1994年)。

また、ジカルボン酸のトランスポーターとして、腎臓のナトリウム依存性ジカルボン酸トランスポーター(NaDC-1)の遺伝子クローニングが報告されている(Pajorら、J. Biol. Chem.、第270巻、5779頁、1995年)。

また、最近、ナトリウム非依存性ラット肝有機陰イオントランスポーター(oatp)の類縁遺伝子として、ラットの腎尿細管に局在する有機陰イオントランスポーターOAT-K 1の遺伝子のクローニングが報告された(Saitoら、J. Biol. Chem.、第270巻、20719頁、1996年)。しかしながら、このOAT-K 1については、その輸送機構が、有機アニオンとジカルボン酸の交換輸送によるものであるとは確認されていない。

発明の開示

本発明の目的は、腎臓における有機陰イオン輸送に関与する新規な有機陰イオントランスポーター遺伝子およびその遺伝子がコードするポリペプチドである有機陰イオントランスポーターを提供することにある。その他の目的については、以下の記載より明らかである。

本発明者らは、ラット腎臓細胞から、有機陰イオンを輸送する能力を有する新規タンパク質の遺伝子をクローニングし、さらにヒトの相同遺伝子(ホモログ)をクローニングした。さらに、これら遺伝子の産物をアフリカツメガエルの卵母細胞中で発現させて有機陰イオンの輸送能を確

認することに成功し、本発明を完成するにいたった。

すなわち、本発明は、以下の(A)、(B)、(C)および(D)から選択されるタンパク質である。

(A)配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

5 (B)配列番号1で示されるアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質。

(C)配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

10 (D)配列番号2で示されるアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質。

また、本発明は、以下の(a)、(b)、(c)および(d)から選択されるDNAからなる遺伝子である。

(a)配列番号1で示される塩基配列からなるDNA。

15 (b)配列番号1で示される塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質をコードするDNA。

(c)配列番号2で示される塩基配列からなるDNA。

20 (d)配列番号2で示される塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質をコードするDNA。

本発明の有機陰イオンを輸送する能力を有する新規タンパク質、すなわち有機陰イオントランスポーター(OAT1:Organic Anion
Transporter 1)は、生体内においては腎臓の尿細管で主に発現している。

25 また、有機陰イオントランスポーターOAT1は、その有機陰イオン

輸送能(発現細胞への有機陰イオン取り込み)が細胞内ジカルボン酸の存在によって活性化される。このことから、有機アニオンとジカルボン酸の交換輸送を行うトランスポーターであると考えられる。また、交換輸送に際しては、OAT1によって有機陰イオンと交換に細胞外にだされるジカルボン酸は、ナトリウム依存性ジカルボン酸トランスポーター(NaDC-1)によって細胞に取り込まれ、リサイクルされることが考えられる。

また、本発明の有機陰イオントランスポーターOAT1は、環状塩基、プロスタグランジン、尿酸のほか、抗生物質、非ステロイド系抗炎症薬、利尿薬、抗腫瘍薬等種々の異なる構造を持った薬物に対してこれらを輸送する(取り込む)能力を有する、非常に広い範囲の基質選択性を有するものである。

また、本発明の有機陰イオントランスポーターOAT1は、既に報告されているラット腎の有機陰イオントランスポーターOAT-K1とは、相同性がなく、全く別の分子種であると考えられる。

図面の簡単な説明

図1はラットのナトリウム依存性ジカルボン酸塩トランスポーター(rNaDC-1)遺伝子のcRNAを注入した卵母細胞によるグルタル酸の取り込み実験の結果を示す図である。

図2はラット腎組織由来mRNAおよび/またはラットNaDC-1遺伝子のcRNAを注入した卵母細胞によるパラアミノ馬尿酸(以下、“PAH”と略す)の取り込み実験の結果を示す図である。

図3はラット有機陰イオントランスポーターOAT1の疎水性プロットを示す図である。

図4はラットの各臓器組織におけるOAT1遺伝子mRNAの発現をノーザンブロッティングにより解析した結果を示した電気泳動の写真で

ある。

図5はラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞によるPAHの取り込み実験においてグルタル酸とのブレインキュベーションの影響およびrNaDC-1との共発現の効果を調べた結果を示す図である。

5 図6はラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞によるPAHの取り込み実験において添加するナトリウム塩の影響を調べた結果を示す図である。

10 図7はラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞によるPAHの取り込み実験において基質PAHの濃度の影響を調べた結果を示す図である。

図8はラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞によるPAHの取り込み実験において、系への各種薬物添加の影響を調べた結果を示す図である。

15 図9は基質として各種薬物を用いた場合の、ラットOAT1遺伝子のcRNAを注入した卵母細胞による放射能標識化合物の取り込み実験の結果を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

20 後記配列表の配列番号1は、ラットの腎臓由来の有機陰イオントランスポーター(ラットOAT1)の遺伝子の全長cDNA塩基配列(約2.2 kbp)、およびその翻訳領域にコードされたタンパク質のアミノ酸配列(551アミノ酸)を表す。

25 配列番号2は、ヒトの腎臓由来の有機陰イオントランスポーター(ヒトOAT1)の遺伝子の全長cDNA塩基配列(約2.2 kbp)、およびその翻訳領域にコードされたタンパク質のアミノ酸配列(563アミノ酸)を表す。

前記配列番号 1 および 2 に示される塩基配列もしくはアミノ酸配列について、既知 DNA データベース (GenBank および EMBL) およびプロテインデータベース (NBRF および SWISS-PROT) に含まれる全ての配列に対してホモロジー検索を行った結果、一致するものはなく、これら配列は、新規なものであると考えられる。

本発明のタンパク質としては、配列番号 1 または 2 で示されたアミノ酸配列を有するもののほか、例えば配列番号 1 または 2 で示されたアミノ酸配列において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を有するものが挙げられる。アミノ酸の欠失、置換もしくは付加は、有機陰イオン輸送活性が失われない程度であればよく、通常 1 ～ 約 110 個、好ましくは 1 ～ 約 55 個である。このようなタンパク質は、配列番号 1 または 2 で示されたアミノ酸配列と通常、80% 以上、好ましくは 90% 以上のアミノ酸配列のホモロジーを有する。

また、本発明の遺伝子としては、配列番号 1 または 2 で示された塩基配列を有する DNA を含むもののほか、配列番号 1 または 2 で示された塩基配列を有する DNA とストリンジントな条件下でハイブリダイズし得る DNA を含むものが挙げられる。このようにハイブリダイズし得る DNA は、その DNA にコードされるタンパク質が有機陰イオンを輸送する能力を有するものであればよい。このような DNA は、配列番号 1 または 2 で示された塩基配列と、通常、70% 以上、好ましくは 80% 以上の塩基配列のホモロジーを有する。このような DNA としては、自然界で発見される変異型遺伝子、人為的に改変した変異型遺伝子、異種生物由来の相同遺伝子等が含まれる。

本発明において、ストリンジントな条件下でのハイブリダイゼーションは、通常のストリンジントな条件 (ローストリンジントな条件)

では、ハイブリダイゼーションを、 $5 \times \text{SSC}$ またはこれと同等の塩濃度のハイブリダイゼーション溶液中、 $37-42^{\circ}\text{C}$ の温度条件下、約12時間行い、 $5 \times \text{SSC}$ またはこれと同等の塩濃度の溶液等で必要に応じて予備洗浄を行った後、 $1 \times \text{SSC}$ またはこれと同等の塩濃度の溶液中で洗浄を行うことにより実施できる。また、より高いストリンジェンシーを有する条件(ハイストリンジェントな条件)では、前記において、洗浄を $0.1 \times \text{SSC}$ またはこれと同等の塩濃度の溶液で行うことにより実施できる。

本発明の有機陰イオントランスポーター遺伝子は、適当な哺乳動物の腎臓の組織や細胞を遺伝子源として用いてスクリーニングを行うことにより単離取得できる。哺乳動物としては、イヌ、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、サル、ブタ、ウサギ、ラットおよびマウスなどの非ヒト動物のほか、ヒトが挙げられる。

遺伝子のスクリーニングおよび単離は、発現クローニング(Expression Cloning)などにより好適に実施できる。

例えば、ラット腎臓組織を遺伝子源として用い、これからmRNA(ポリ(A)⁺RNA)を調製する。これを、分画し、各画分について、ラットナトリウム依存性ジカルボン酸塩トランスポーター(rNaDC-1)のcRNAとともに、アフリカツメガエルの卵母細胞に導入する。

NaDC-1遺伝子のcDNAはすでに報告されている(Pajorら、J. Biol. Chem.、第270巻、5779頁、1995年)ので、この配列情報から、PCR法などを用いて、容易にNaDC-1遺伝子のcDNAを得ることが可能である。得られたNaDC-1cDNAから、T3またはT7RNAポリメラーゼ等を用いて、これに相補的なRNA(cRNA)(キャップ化されたもの)を合成できる。

mRNAと、NaDC-1cRNAを導入した卵母細胞について、例えばPAHなどを基質(有機陰イオン)として、細胞内への基質の輸送(取込み)を測定し、高い取り込みを示したmRNAの画分を選択することにより、OAT1のmRNAを濃縮できる。この濃縮されたmRNAをもとに、

5 cDNAライブラリーを作製する。ライブラリーのcDNAから、cRNA(キャップ化されたもの)を調製し、各々のクローンについて、前記と同様にして、NaDC-1cRNAとともに卵母細胞に導入し、基質の取り込み活性を指標として、陽性クローンを選択することにより、OAT1遺伝子のcDNAを含むクローンを得ることができる。

10 得られたcDNAについては、常法により塩基配列を決定し、翻訳領域を解析して、これにコードされるタンパク質、すなわち、OAT1のアミノ酸配列を決定することができる。

得られたcDNAが、有機陰イオントランスポーター遺伝子のcDNAであること、すなわちはcDNAにコードされた遺伝子産物が有機陰イオントランスポーターであることは、例えば次のようにして検証することができる。すなわち、得られたOAT1遺伝子のcDNAから調製したcRNAを卵母細胞内に導入して発現させ、有機陰イオンを細胞内へ輸送する(取り込む)能力を、前記と同様、適当な有機陰イオンを基質とする通常の取込み試験(Kanai and Hediger、Nature、第360巻、467-471頁、

15 1992年)により、細胞内への基質の取り込みを測定することにより確認できる。

また、発現細胞について、同様の取り込み実験を応用して、OAT1の特性、例えば、OAT1がジカルボン酸との交換輸送を行っているという特性や、OAT1の基質特異性などを調べることができる。

25 得られたOAT1遺伝子のcDNAを用いて、異なる遺伝子源で作製さ

れた適当なcDNAライブラリーまたはゲノミックDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、異なる組織、異なる生物由来の相同遺伝子や染色体遺伝子等を単離することができる。

また、開示された本発明の遺伝子の塩基配列(配列番号1および2に示された塩基配列、もしくはその一部)の情報に基づいて設計された合成プライマーを用い、通常のPCR(Polymerase Chain Reaction)法によりcDNAライブラリーまたはゲノミックDNAライブラリーから遺伝子を単離することができる。

cDNAライブラリーおよびゲノミックDNAライブラリー等のDNAライブラリーは、例えば、「モレキュラークローニング(Molecular Cloning)」(Sambrook, J., Fritsch, E. F.およびManiatis, T. 著、Cold Spring Harbor Laboratory Pressより1989年に発刊)に記載の方法により調製することができる。あるいは、市販のライブラリーがある場合はこれを用いてもよい。

本発明の有機陰イオントランスポーター(OAT1)は、例えば、有機陰イオントランスポーターをコードするcDNAを用い、遺伝子組換え技術により生産することができる。例えば、有機陰イオントランスポーターをコードするDNA(cDNA等)を適当な発現ベクターに組み込み、得られた組換えDNAを適当な宿主細胞に導入することができる。ポリペプチドを生産するための発現系(宿主-ベクター系)としては、例えば、細菌、酵母、昆虫細胞および哺乳動物細胞の発現系等が挙げられる。このうち、機能タンパクを得るためには、昆虫細胞および哺乳動物細胞を用いることが好ましい。

例えば、ポリペプチドを哺乳動物細胞で発現させる場合には、有機陰イオントランスポーターをコードするDNAを、適当な発現ベクター(例

例えば、レトロウイルス系ベクター、パピローマウイルスベクター、ワク
シニアウイルスベクター、SV40系ベクター等)中の適当なプロモータ
ー(例えば、SV40プロモーター、LTRプロモーター、エロンゲーシ
ョン1 α プロモーター等)の下流に挿入して発現ベクターを構築する。次
5 に、得られた発現ベクターで適当な動物細胞を形質転換し、形質転換体
を適当な培地で培養することによって、目的とするポリペプチドが生産
される。宿主とする哺乳動物細胞としては、サルCOS-7細胞、チャ
イニーズハムスターCHO細胞、ヒトHeLa細胞または、腎臓組織由来
の初代培養細胞やブタ腎由来LLC-PK1細胞、フクロネズミ腎由来
10 OK細胞等の細胞株等が挙げられる。

有機陰イオントランスポーターOAT1をコードするDNAとしては、
例えば、配列番号1および2に示される塩基配列を有するcDNAを用い
ることができるほか、前記のcDNA配列に限定されることなく、アミノ
酸配列に対応するDNAを設計し、ポリペプチドをコードするDNAと
15 して用いることもできる。この場合、ひとつのアミノ酸をコードするコ
ドンは各々1~6種類知られており、用いるコドンの選択は任意でよい
が、例えば発現に利用する宿主のコドン使用頻度を考慮して、より発現
効率の高い配列を設計することができる。設計した塩基配列を持つDN
Aは、DNAの化学合成、前記cDNAの断片化と結合、塩基配列の一部
20 改変等によって取得できる。人為的な塩基配列の一部改変、変異導入は、
所望の改変をコードする合成オリゴヌクレオチドからなるプライマーを
利用して部位特異的変異導入法(site specific mutagenesis)(Mark, D.
F. et al., Proceedings of National Academy of Sciences, 第81巻、
第5662~5666頁(1984年))等によって実施できる。

25 本発明の有機陰イオントランスポーター遺伝子にストリンジェントな

条件下でハイブリダイズするヌクレオチド(オリゴヌクレオチドもしくはポリヌクレオチド)は、有機陰イオントランスポーター遺伝子を検出するためのプローブとして使用できるほか、有機陰イオントランスポーター遺伝子の発現を変調させるために、例えばアンチセンスオリゴヌクレオチドや、リボザイム、デコイとして使用することもできる。このようなヌクレオチドとしては、例えば、配列番号1または2で示される塩基配列の中の通常、連続する14塩基以上の部分配列もしくはその相補的な配列を含むヌクレオチドを用いることができ、ハイブリダイズをより特異的とするためには部分配列としてより長い配列、例えば20塩基以上あるいは30塩基以上の配列を用いてもよい。

また、本発明の有機陰イオントランスポーターまたはこれと免疫学的同等性を有するポリペプチドを用いて、その抗体を取得することができ、抗体は、有機陰イオントランスポーターの検出や精製などに利用できる。抗体は、本発明の有機陰イオントランスポーター、その断片、またはその部分配列を有する合成ペプチド等を抗原として用いて製造できる。ポリクローナル抗体は、宿主動物(例えば、ラットやウサギ等)に抗原を接種し、免疫血清を回収する、通常の方法により製造することができる。また、モノクローナル抗体は、通常のハイブリドーマ法などの技術により製造できる。

以下、実施例をもって本発明をさらに詳しく説明するが、これらの実施例は本発明を制限するものではない。

なお、下記実施例において、各操作は特に明示がない限り、「モレキュラークローニング(Molecular Cloning)」(Sambrook, J., Fritsch, E.F.およびManiatis, T. 著、Cold Spring Harbor Laboratory Pressより1989年に発刊)に記載の方法により行うか、または、市販の試薬やキッ

トを用いる場合には市販品の指示書に従って使用した。

実施例

実施例 1 ラット有機陰イオントランスポーターのクローニング

(1) ラットジカルボン酸塩トランスポーターcDNAの単離とcRNAの調製

cDNAライブラリーは、ラットポリ(A)⁺RNAから、cDNA合成用キット(商品名: SuperScript Choice System、ギブコ社製)を使用して作成し、ファージベクターλ Ziplox(ギブコ社製)の制限酵素EcoRI切断部位に組み込んだ。PCR法にて、ウサギのナトリウム依存性ジカルボン酸トランスポーターNaDC-1遺伝子(Pajorら、J. Biol. Chem.、第270巻、5779頁、1995年)の第1323-1763番目の塩基に相当するセグメントを³²P-dCTPでラベルし、これをプローブとして用いて、ラットのcDNAライブラリーをスクリーニングした。ハイブリダイゼーションは、37℃のハイブリダイゼーション用溶液中で一晩行い、フィルター膜は、37℃で0.1×SSC/0.1%SDSで洗浄した。ハイブリダイゼーション用溶液としては、5×SSC、3×デンハード液(Denhard's液)、0.2%SDS、10%硫酸デキストラン、50%ホルムアミド、0.01% Antiform B(商品名、シグマ社製)(消泡剤)、0.2mg/ml サーモン精子変性DNA、2.5mM ピロリン酸ナトリウム、25mM MESを含むpH6.5の緩衝液を用いた。λ Ziploxファージに組込まれたcDNA部分を、塩基配列決定のために、プラスミドpZL1に組み込み、さらにプラスミドpBluescript I ISK-(Stratagene社製)へサブクローン化した。

上記により得られたラットジカルボン酸塩トランスポーターのcDNAを含むプラスミドから、T7RNAポリメラーゼを用いて、cRNA(cD

NAに相補的なRNA)を調製した。

得られたcRNAを、金井らの方法(Kanai and Hediger、Nature、第360巻、第467-471頁、1992年)に準じて、アフリカツメガエルの卵母細胞に注入し、この卵母細胞について、基質としてグルタル酸を用いる取り込み実験を行った。実験には、放射能ラベルした基質(^{14}C -グルタル酸)を用い、また取り込み溶液として、ナトリウムイオンの影響を調べるためのナトリウムの取り込み溶液(96mM 塩化ナトリウム、2mM 塩化カリウム、1.8mM 塩化カルシウム、1mM 塩化マグネシウム、5mM HEPES、pH 7.4)、塩化コリンイオンの影響を調べるための塩化コリン取り込み溶液(96mM 塩化コリン、2mM 塩化カリウム、1.8mM 塩化カルシウム、1mM 塩化マグネシウム、5mM HEPES、pH 7.4)を用い、これらに ^{14}C -グルタル酸を1mM濃度で添加して試験液とした。コントロールにはRNAを注入しない卵母細胞を用いた。

その結果を図1に示す。図1から明らかなように、塩化コリン取り込み溶液ではrNaDC-1のcRNAを注入した卵母細胞とコントロールのいずれにおいてもグルタル酸の取り込みが認められなかった。これに対し、ナトリウム取り込み溶液ではrNaDC-1のcRNAを注入した卵母細胞において著しいグルタル酸の取り込みが認められた。すなわちグルタミン酸の取り込みがナトリウム依存性であることが示され、クローニングしたcDNAがラットジカルボン酸塩トランスポーター遺伝子のものであることが確認できた。

(2)ラット腎臓有機陰イオントランスポーターOAT1のクローニング

金井らの方法(Kanai and Hediger、Nature、第360巻、第467-471頁、1992年)に準じて、発現クローニング法により以下のようにして行った。

ゲル電気泳動によりラット腎臓ポリ(A) $^{+}$ RNA 400 μg を分画した。

分画により得られた各画分を、上記(1)で得られたラットジカルボン酸塩トランスポーターのcRNAと共に卵母細胞に注入した。卵母細胞は、基質として1mM グルタル酸を含むナトリウム取り込み溶液(96mM 塩化ナトリウム、2mM 塩化カリウム、1.8mM 塩化カルシウム、1mM 塩化マグネシウム、5mM HEPES、pH 7.4)中にて予め2時間前培養したものを用いた。

RNA注入した卵母細胞について、基質としてPAHを用い、基質の取り込み実験を金井らの方法(Kanai and Hediger、Nature、第360巻、第467-471頁、1992年)に準じて、以下のようにして行った。基質として¹⁴C-PAH(50 μM)を含みグルタル酸を含まないナトリウム取り込み溶液中にて1時間卵母細胞を培養して、細胞内に取り込まれた放射能のカウントで基質の取り込み率を測定した。その結果、図2に示すように、この系において、ラット腎臓のポリ(A)⁺RNA(mRNA)だけを注入した卵母細胞、および、ラットジカルボン酸塩トランスポーターのcRNAのみを注入した卵母細胞では、PAHの取り込みは見られなかったのに対して、ラット腎臓のポリ(A)⁺RNAとラットジカルボン酸塩トランスポーターのcRNAの両者を注入した卵母細胞ではPAHの取り込みが認められることを確認した。コントロールにはRNAを注入しない卵母細胞を用いた。

分画により得られた各RNA画分のうちRNAを注入した卵母細胞が、最も高いPAHの取り込み率を示した画分を選択した。この画分のポリ(A)⁺RNA(1.8~2.4 kb)について、cDNA合成およびプラスミドクローニング用キット(商品名: Superscript Plasmid System、ギブコ社製)を使用して、cDNAのライブラリーを作成した。これらDNAはプラスミドpSPORT1(ギブコ社製)の制限酵素Sal IおよびNot I認

識部位に組み込み、得られた組換えプラスミドDNAを大腸菌DH10B株のコンピテントセル(商品名:Electro Max DH10B Competent cell、ギブコBRL社製)に導入した。得られた形質転換体をニトロセルロース膜上で培養し、1プレート当たり約500個のコロニーが得られた。これらコロニーから、プラスミドDNAを調製し、これらを制限酵素Not Iで切断した。得られたDNAを用いて、in vitro転写により、キャップ化されたcRNAを合成した。

得られたcRNA(約10ng)を、上記(1)で得たラットジカルボン酸塩トランスポーターのcRNA(2ng)と共に卵母細胞へ注入した。これら卵母細胞について、前記と同様にして、PAHの取り込み実験を行うことにより陽性クローンのスクリーニングを行った。スクリーニングに際しては、複数のクローンから抽出したDNAをプールしたグループについて調べ、あるグループでPAHの取り込みが確認された場合、さらにそれを複数のグループに分割し、さらにスクリーニングを行った。

スクリーニングの結果、8000個のクローンから1つの陽性クローン(cRNAを注入した卵母細胞で基質の取り込みが認められるクローン)が単離された。

得られたクローン、すなわち、ラットジカルボン酸塩トランスポーターOAT1のcDNAを含むクローンについて、塩基配列決定のための欠失クローン作製用キット(商品名:Kilo-Sequense Deletion Kit、宝酒造社製)、合成プライマー、塩基配列決定用キット(商品名:Sequenase ver.2.0、アマシャム社製)を用いてダイデオキシ法により、cDNAの塩基配列を決定した。

これにより、ラットジカルボン酸塩トランスポーターOAT1遺伝子のcDNAの塩基配列が得られた。また、cDNAの塩基配列を常法によ

り解析して、cDNA上の翻訳領域とそこにコードされるOAT1のアミノ酸配列を決定した。これら配列を、後記配列表の配列番号1に示した。

疎水性プロット(Kyte-Doolittle hydrophathy analysis)により、OAT1のアミノ酸配列を解析した結果、図3に示したように、12個の膜貫通領域(membrane-spanning domains)が予測された。また、5つの糖鎖付加部位が最初の親水性ループに予測された。6番目と7番目の膜貫通領域(transmembrane domains)の親水基のループにプロテインキナーゼC依存性のリン酸化部位と考えられる部位が4つあった。

(3)種々の組織におけるOAT1遺伝子の発現(ノーザンブローディングによる解析)

ラットOAT1遺伝子の全長cDNAを ^{32}P -dCTPでラベルし、これをプローブとして用いて、ラットの種々の組織から抽出したRNAに対してノーザンブローディングを以下のように行なった。3 μg のポリ(A) $^{+}$ RNAを1%アガロース/ホルムアルデヒドゲルで電気泳動したのち、ニトロセルロースフィルターにトランスファーした。このフィルターを42°Cで、 ^{32}P -dCTPでラベルした全長のOAT1cDNAを含んだハイブリダイゼーション液で1晩ハイブリダイゼーションを行った。フィルターを、65°Cにて、0.1%SDSを含む0.1xSSCで洗浄した。

ノーザンブローディングの結果、図4に示すように、腎臓において、2.4kb付近と3.9kbと4.2kbに相当する2つのバンドが検出され、発現が認められた。腎臓の皮質と髄質外層ではOAT1 mRNAの発現量が多く、髄質内層では少なかった。

さらに長時間の感光で、脳において2.4kb付近にかすかなバンドが検出されたが、その他の組織ではバンドは検出されず、発現は認められな

かった。

(4)腎組織におけるOAT 1遺伝子の発現(In situ ハイブリダイゼーションによる解析)

5 In situ ハイブリダイゼーションを以下のように行った。すなわち、
ラットの腎臓を4% パラホルムアルデヒドで灌流することにより固定し
た後、これを細切り、4% パラホルムアルデヒドでさらに固定した。得
られたラット腎臓を5 μ mの厚さに薄切し、得られた切片を、in situ ハ
イブリダイゼーションに用いた。

10 全長のOAT 1 cDNAから、T7もしくはT3 RNAポリメラーゼを
用いて、³⁵SでラベルしたセンスcRNAとアンチセンスcRNAを合成
し、プローブとして用いた。切片をハイブリダイゼーション液で一晩ブ
ローブでハイブリダイゼーションを行ない、0.1 \times SSCで30分、3
7°Cにて洗浄した。

15 In situ ハイブリダイゼーションの結果、ラット腎臓では、OAT 1
mRNAは腎臓の皮質と髄質外層、特に皮質の髄放線の部分で発現するこ
とが示された。髄質内層では発現は検出されなかった。この結果は、有
機陰イオントランスポーターOAT 1が近位尿細管の中間部分で最も多
く発現されることを示している。

実施例2 有機陰イオントランスポーターOAT 1の特徴づけ

20 (1)OAT 1の輸送活性におけるグルタル酸の影響

ラットOAT 1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞によるPAHの取り
込み実験においてグルタル酸とのプレインキュベーションの影響を調べ
た。

25 PAHの取り込み実験は、前記実施例1(2)記載方法に準じ、以下の
ように行った。すなわち、ラットOAT 1遺伝子cRNAもしくは、ラッ

トOAT1遺伝子cRNAとラットNaDC-1cRNAを注入した卵母細胞を、1mM グルタル酸添加もしくは無添加のナトリウム取り込み溶液中で2時間前培養したあと、 ^{14}C -PAHを添加して室温で1時間培養し放射能でラベルされた基質の取り込みを測定した。

5 その結果、図5に示すように、PAHの取り込みは、1mMグルタル酸で卵母細胞を前処置することによって増加した。また、ラットジカルボン酸塩トランスポーターとOAT1が発現している卵母細胞をグルタル酸で前処置すると、さらに ^{14}C -PAHの取り込みの増加が見られた。この結果に示されるグルタル酸の効果は、PAH取り込みの細胞内ジカルボン酸濃度依存性を示しており、OAT1が有機アニオンとジカルボン酸の交換輸送体であると考えられた。コントロールにはRNAを注入しない卵母細胞を用いた。

(2)OAT1の輸送活性の塩依存性

15 ラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞によるPAHの取り込み実験において培養液に添加する塩の影響を調べた。

20 PAHの取り込み実験は、ラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞を用い、前記(1)記載方法に準じて実施した。但し、取り込み溶液は、塩として塩化コリンイオンを添加した場合の影響をみる場合には、ナトリウム取り込み溶液にかえて、前記実施例1の(1)で用いたものと同じ塩化コリン取り込み溶液を用いた。

 その結果、図6に示すように、細胞外のナトリウムをコリンと置換しても、PAH取り込みに何ら影響を与えなかった。このことから、OAT1はナトリウムイオン非依存性に働くトランスポーターであることが示された。コントロールにはRNAを注入しない卵母細胞を用いた。

25 (3)OAT1のミカエリス-メンテンの動力学試験

基質PAHの濃度の違いによるPAHの取り込み率の変化を調べることにより、有機陰イオントランスポーターのミカエリス-メンテンの動力学試験を行った。

PAHの取り込み実験は、ラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞を用い、前記(1)記載の方法に準じて実施した。但し、 ^{14}C -PAH取り込みは3分間測定した。その結果、図7に示すように、 K_m 値は約 $14.3 \pm 2.9 \mu\text{M}$ であった。この K_m 値は、既にin vivo系で報告されている基底側の有機アニオントランスポート系の K_m 値($80 \mu\text{M}$)(Ulrichら、Am. J. Physiol. 第254巻、F453-462頁、1988年)とほぼ同様であった。

(4) OAT1の基質選択性(薬物添加による阻害試験)

ラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞によるPAHの取り込み実験において、系への各種薬物添加の影響を調べた。

PAHの取り込み実験は、ラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞を用い、前記(1)記載方法に準じて実施した。但し、ナトリウム取り込み溶液を用い、 2 mM の各種化合物(非標識)の存在下および非存在下(コントロール)で、PAHの取り込みを測定した。

その結果、図8に示すように、構造的に無関係の薬物の添加で、cis-阻害効果が観察された。セファロリジン(β -ラクタム系抗生物質)、ナリジクス酸(オールドキノロン)、フロセミドとエタクリン酸(利尿薬)、インドメタシン(非ステロイド系抗炎症剤)、プロベネシド(尿酸排泄薬)、バルプロ酸(抗てんかん薬)はOAT-1を介したPAHの取り込みを強く阻害した($85\% >$)。抗腫瘍薬であるメトトレキサートはPAHの取り込みを中等度に阻害した。プロスタグランジンE₂、c-AMP、c-GMP、尿酸といった内因性化合物もPAHの取り込みを阻害した。

(5)OAT1の基質選択性(各種陰イオン性物質を基質とする取り込み試験)

各種陰イオン性物質を基質として、OAT1による取り込みを調べた。

取り込み実験は、ラットOAT1遺伝子cRNAを注入した卵母細胞を用い、前記(1)に記載の方法に準じて実施した。但し、基質としては、¹⁴C-PAHにかえて、放射能でラベルされた各種の化合物を用いた。コントロールには、RNAを注入しない卵母細胞を用いた。

その結果、図9に示すように、メトトレキサート(³H標識物)、c-AMP(³H標識物)、c-GMP(³H標識物)、プロスタグランジンE₂(³H標識物)、尿酸(¹⁴C標識物)、α-ケトグルタル酸(¹⁴C標識物)を基質とした場合に、卵母細胞への取り込みが認められた。一方、TEA(¹⁴C標識物)とタウロコール酸では取り込みを示さなかった。

実施例3 ヒト有機陰イオントランスポーターのクローニング

実施例1の(2)にて得たラットOAT1遺伝子のcDNA断片を標識し、これをプローブとして用いて、ヒトcDNAライブラリーをスクリーニングした。ヒトcDNAライブラリーは、遺伝子源としてヒト腎ポリ(A)⁺RNA(クロンテク社製)を用いて作製したヒトcDNAライブラリーを用いた。

また、得られた陽性クローン、すなわち、ヒト有機陰イオントランスポーター(ヒトOAT1)cDNAを含むクローンについて、実施例1と同様にして、塩基配列を決定し、得られたcDNAの塩基配列を常法により解析して、cDNA上の翻訳領域とそこにコードされるヒトOAT1のアミノ酸配列を決定した。これらヒトOAT1の配列を、後記配列表の配列番号2に示した。

ラットOAT1とヒトOAT1とのホモロジーは、アミノ酸レベルで

約 85% であった。また、cDNA レベルでのホモロジーは、約 79% であった。

産業上の利用の可能性

5 本発明の有機陰イオントランスポーター OAT1 およびその遺伝子は、薬物排出や薬物と薬物の相互作用のインビトロでの分析など、薬物動態や毒物動態の分子レベルでの解明に有用と考えられる。また、 β ラクタム系抗生物質、利尿薬、非ステロイド系抗炎症薬のような腎不全の原因となる多くの薬物が、OAT1 によって輸送され、薬物が腎毒性を引き起こす原因は OAT1 に起因する蓄積性による可能性が示唆されること

10 から、OAT1 を用いて腎毒性を防止するための薬物をスクリーニングする方法を開発し得ると考えられる。

配 列 表

配列番号 : 1

配列の長さ : 2294

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

起源

生物名 : ラット

配列

GCTCCAGCAG ACCCTGAAAG CTGAGCTGTC CAGACCCCCG AAGTGAAGAA AAGAGGCGAG	60
GGCAAGGGAG GGCCAGAACC GAGGGAGAGA GAAAGGAGGG GCAGCCCACC AGCCCGCTGT	120
CCTGCCACAG AACCGGCTCA GCTCCAGCTC CAGGAGTCAC TCAGCTGCAG AGGCAGTGGC	180
AGCCCCACTC CTCAGGCAAA GGGCAGCAGA CAGACAGACA GAGGTCCTAG GACTGGAGGT	240
CCTCAGTCAT TGACCACTCA GCCTGGCCCCA GCCCC	275
ATG GCC TTC AAT GAC CTC CTG AAA CAG GTG GGG GGC GTC GGA CGC	320
Met Ala Phe Asn Asp Leu Leu Lys Gln Val Gly Gly Val Gly Arg	
1 5 10 15	
TTC CAG TTG ATC CAG GTC ACC ATG GTG GTT GCT CCC CTA CTG CTG	365
Phe Gln Leu Ile Gln Val Thr Met Val Val Ala Pro Leu Leu Leu	
20 25 30	
ATG GCT TCC CAC AAC ACC TTG CAG AAC TTC ACT GCC GCT ATC CCC	410
Met Ala Ser His Asn Thr Leu Gln Asn Phe Thr Ala Ala Ile Pro	
35 40 45	

CCT CAT CAC TGC CGC CCA CCT GCC AAT GCC AAT CTC AGC AAA GAT	455
Pro His His Cys Arg Pro Pro Ala Asn Ala Asn Leu Ser Lys Asp	
50 55 60	
GGA GGT CTG GAG GCC TGG CTG CCC CTG GAC AAG CAA GGA CAA CCC	500
Gly Gly Leu Glu Ala Trp Leu Pro Leu Asp Lys Gln Gly Gln Pro	
65 70 75	
GAA TCG TGC CTC CGC TTT ACT TCC CCC CAG TGG GGA CCA CCC TTT	545
Glu Ser Cys Leu Arg Phe Thr Ser Pro Gln Trp Gly Pro Pro Phe	
80 85 90	
TAC AAT GGC ACA GAA GCC AAT GGC ACC AGA GTC ACA GAG CCC TGC	590
Tyr Asn Gly Thr Glu Ala Asn Gly Thr Arg Val Thr Glu Pro Cys	
95 100 105	
ATT GAT GGC TGG GTC TAT GAC AAC AGC ACC TTC CCT TCA ACC ATC	635
Ile Asp Gly Trp Val Tyr Asp Asn Ser Thr Phe Pro Ser Thr Ile	
110 115 120	
GTG ACT GAG TGG AAC CTT GTG TGC TCT CAT CGG GCT TTC CGC CAG	680
Val Thr Glu Trp Asn Leu Val Cys Ser His Arg Ala Phe Arg Gln	
125 130 135	
CTG GCC CAG TCC CTG TAC ATG GTG GGA GTG CTG CTG GGA GCC ATG	725
Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Met Val Gly Val Leu Leu Gly Ala Met	
140 145 150	
GTG TTT GGC TAC CTG GCG GAC AGG CTG GGC CGC CGG AAG GTG CTG	770
Val Phe Gly Tyr Leu Ala Asp Arg Leu Gly Arg Arg Lys Val Leu	
155 160 165	

ATC TTG AAC TAC CTG CAG ACA GCT GTG TCG GGA ACC TGT GCA GCC	815
Ile Leu Asn Tyr Leu Gln Thr Ala Val Ser Gly Thr Cys Ala Ala	
170 175 180	
TAT GCA CCC AAC TAT ACT GTC TAC TGC GTT TTC CGG CTC CTC TCG	860
Tyr Ala Pro Asn Tyr Thr Val Tyr Cys Val Phe Arg Leu Leu Ser	
185 190 195	
GGC ATG TCT TTG GCT AGC ATT GCA ATC AAC TGC ATG ACA CTA AAT	905
Gly Met Ser Leu Ala Ser Ile Ala Ile Asn Cys Met Thr Leu Asn	
200 205 210	
GTG GAA TGG ATG CCT ATC CAC ACC CGT GCC TAT GTG GGC ACC TTG	950
Val Glu Trp Met Pro Ile His Thr Arg Ala Tyr Val Gly Thr Leu	
215 220 225	
ATT GGC TAT GTC TAC AGC CTG GGC CAG TTC CTC CTG GCT GGC ATC	995
Ile Gly Tyr Val Tyr Ser Leu Gly Gln Phe Leu Leu Ala Gly Ile	
230 235 240	
GCC TAT GCT GTG CCC CAC TGG CGC CAC CTG CAG CTT GTG GTC TCT	1040
Ala Tyr Ala Val Pro His Trp Arg His Leu Gln Leu Val Val Ser	
245 250 255	
GTG CCT TTT TTC ATT GCC TTC ATC TAC TCT TGG TTC TTC ATT GAG	1085
Val Pro Phe Phe Ile Ala Phe Ile Tyr Ser Trp Phe Phe Ile Glu	
260 265 270	
TCA GCC CGC TGG TAC TCC TCC TCA GGA AGG CTG GAC CTC ACC CTC	1130
Ser Ala Arg Trp Tyr Ser Ser Ser Gly Arg Leu Asp Leu Thr Leu	
275 280 285	

CGA GCC CTG CAG AGA GTG GCC CGG ATC AAT GGG AAA CAA GAA GAA	1175
Arg Ala Leu Gln Arg Val Ala Arg Ile Asn Gly Lys Gln Glu Glu	
290 295 300	
GGG GCT AAG CTA AGT ATA GAG GTG CTC CGG ACC AGC CTG CAG AAG	1220
Gly Ala Lys Leu Ser Ile Glu Val Leu Arg Thr Ser Leu Gln Lys	
305 310 315	
GAA CTG ACT CTA AGC AAA GGC CAA GCC TCA GCC ATG GAG CTG CTG	1265
Glu Leu Thr Leu Ser Lys Gly Gln Ala Ser Ala Met Glu Leu Leu	
320 325 330	
CGC TGC CCC ACC CTT CGA CAC CTC TTC CTC TGT CTC TCC ATG CTG	1310
Arg Cys Pro Thr Leu Arg His Leu Phe Leu Cys Leu Ser Met Leu	
335 340 345	
TGG TTT GCC ACT AGC TTT GCC TAC TAC GGG CTG GTC ATG GAC CTG	1355
Trp Phe Ala Thr Ser Phe Ala Tyr Tyr Gly Leu Val Met Asp Leu	
350 355 360	
CAG GGC TTT GGG GTC AGC ATG TAC CTT ATC CAG GTG ATT TTC GGT	1400
Gln Gly Phe Gly Val Ser Met Tyr Leu Ile Gln Val Ile Phe Gly	
365 370 375	
GCC GTG GAC CTG CCT GCC AAG TTT GTA TGC TTC CTA GTC ATC AAC	1445
Ala Val Asp Leu Pro Ala Lys Phe Val Cys Phe Leu Val Ile Asn	
380 385 390	
TCC ATG GGG CGC CGG CCT GCA CAG ATG GCC TCC CTG CTG CTG GCA	1490
Ser Met Gly Arg Arg Pro Ala Gln Met Ala Ser Leu Leu Leu Ala	
395 400 405	

GGC ATC TGC ATC CTG GTG AAT GGC ATA ATA CCG AAG AGC CAT ACG	1535
Gly Ile Cys Ile Leu Val Asn Gly Ile Ile Pro Lys Ser His Thr	
410 415 420	
ATC ATT CGC ACC TCC CTG GCT GTG CTA GGG AAG GGC TGC CTG GCT	1580
Ile Ile Arg Thr Ser Leu Ala Val Leu Gly Lys Gly Cys Leu Ala	
425 430 435	
TCC TCT TTC AAC TGC ATC TTC CTG TAC ACC GGA GAG CTG TAC CCC	1625
Ser Ser Phe Asn Cys Ile Phe Leu Tyr Thr Gly Glu Leu Tyr Pro	
440 445 450	
ACA GTG ATT CGG CAG ACA GGC CTG GGC ATG GGC AGC ACC ATG GCC	1670
Thr Val Ile Arg Gln Thr Gly Leu Gly Met Gly Ser Thr Met Ala	
455 460 465	
CGG GTG GGC AGC ATT GTG AGC CCG CTG GTG AGC ATG ACT GCA GAG	1715
Arg Val Gly Ser Ile Val Ser Pro Leu Val Ser Met Thr Ala Glu	
470 475 480	
TTC TAC CCC TCC ATG CCT CTC TTC ATC TTC GGC GCT GTC CCT GTG	1760
Phe Tyr Pro Ser Met Pro Leu Phe Ile Phe Gly Ala Val Pro Val	
485 490 495	
GTC GCC AGT GCT GTC ACT GCC CTG CTG CCA GAG ACC TTG GGC CAG	1805
Val Ala Ser Ala Val Thr Ala Leu Leu Pro Glu Thr Leu Gly Gln	
500 505 510	
CCG CTG CCA GAT ACA GTG CAG GAC CTG AAG AGC AGG AGC AGA GGA	1850
Pro Leu Pro Asp Thr Val Gln Asp Leu Lys Ser Arg Ser Arg Gly	
515 520 525	

AAG CAG AAT CAA CAG CAG CAG GAA CAG CAG AAG CAG ATG ATG CCG 1895
 Lys Gln Asn Gln Gln Gln Gln Glu Gln Gln Lys Gln Met Met Pro

530

535

540

CTC CAG GCC TCA ACA CAA GAG AAG AAT GGA CTT 1928
 Leu Gln Ala Ser Thr Gln Glu Lys Asn Gly Leu

545

550 551

TGAGAACGGA AGGGCTTCAC ACAGCACTAA AGGGAGTGGG GTTCTACAGG TCCTGCCGTC 1988
 TACATGAGGA GGGGGAGTGA GTAGAGGGAC TGGACCATCC AAATGTGGAG GCTGCCATTC 2048
 AGAGAAATCC CTCCCCAAAG GTCATGTCAG TAGACCCACT AGGAACAAAA GCTCTGACTA 2108
 TGTGCAGCTT CTTAAGCAGA ATGTTCTCGT CACCGGCCAT CTTCTGCTC ATGGTCACTC 2168
 CGCCACCTCC AGGACCTTGC AAAGAATCTC AGACAATTAA ATGAATCTCT TCTAAAAAAA 2228
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA 2288
 AAAAAA 2294

配列番号 : 2

配列の長さ : 2171

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

起源

生物名 : ヒト

配列

GAAAGCTGAG CTGCCCTGAC CCCCAAAGTG AGGAGAAGCT GCAAGGGAAA AGGGAGGGAC 60
 AGATCAGGGA GACCGGGGAA GAAGGAGGAG CAGCCAAGGA GGCTGCTGTC CCCCCACAGA 120
 GCAGCTCGGA CTCAGCTCCC GGAGCAACCC AGCTGCGGAG GCAACGGCAG TGCTGCTCCT 180

CCAGCGAAGG ACAGCAGGCA GGCAGACAGA CAGAGGTCCT GGGACTGGAA GGCCTCAGCC	240
CCCAGCCACT GGGCTGGGCC TGGCCCA	267
ATG GCC TTT AAT GAC CTC CTG CAG CAG GTG GGG GGT GTC GGC CGC	312
Met Ala Phe Asn Asp Leu Leu Gln Gln Val Gly Gly Val Gly Arg	
1 5 10 15	
TTC CAG CAG ATC CAG GTC ACC CTG GTG GTC CTC CCC CTG CTC CTG	357
Phe Gln Gln Ile Gln Val Thr Leu Val Val Leu Pro Leu Leu Leu	
20 25 30	
ATG GCT TCT CAC AAC ACC CTG CAG AAC TTC ACT GCT GCC ATC CCT	402
Met Ala Ser His Asn Thr Leu Gln Asn Phe Thr Ala Ala Ile Pro	
35 40 45	
ACC CAC CAC TGC CGC CCG CCT GCC GAT GCC AAC CTC AGC AAG AAC	447
Thr His His Cys Gly Pro Pro Ala Asp Ala Asn Leu Ser Lys Asn	
50 55 60	
GGG GGG CTG GAG GTC TGG CTG CCC CGG GAC AGG CAG GGG CAG CCT	492
Gly Gly Leu Glu Val Trp Leu Pro Arg Asp Arg Gln Gly Gln Pro	
65 70 75	
GAG TCC TGC CTC CGC TTC ACC TCC CCG CAG TGG GGA CTG CCC TTT	537
Glu Ser Cys Leu Arg Phe Thr Ser Pro Gln Trp Gly Leu Pro Phe	
80 85 90	
CTC AAT GGC ACA GAA GCC AAT GGC ACA GGG GCC ACA GAG CCC TGC	582
Leu Asn Gly Thr Glu Ala Asn Gly Thr Gly Ala Thr Glu Pro Cys	
95 100 105	

ACC GAT GGC TGG ATC TAT GAC AAC AGC ACC TTC CCA TCT ACC ATC	627
Thr Asp Gly Trp Ile Tyr Asp Asn Ser Thr Phe Pro Ser Thr Ile	
110 115 120	
GTG ACT GAG TGG GAC CTT GTG TGC TCT CAC AGG GCC CTA CGC CAG	672
Val Thr Glu Trp Asp Leu Val Cys Ser His Arg Ala Leu Arg Gln	
125 130 135	
CTG GCC CAG TCC TTG TAC ATG GTG GGG GTG CTG CTC GGA GCC ATG	717
Leu Ala Gln Ser Leu Tyr Met Val Gly Val Leu Leu Gly Ala Met	
140 145 150	
GTG TTC GGC TAC CTT GCA GAC AGG CTA GGC CGC CGG AAG GTA CTC	762
Val Phe Gly Tyr Leu Ala Asp Arg Leu Gly Arg Arg Lys Val Leu	
155 160 165	
ATC TTG AAC TAC CTG CAG ACA GCT GTG TCA GGG ACC TGC GCA GCC	807
Ile Leu Asn Tyr Leu Gln Thr Ala Val Ser Gly Thr Cys Ala Arg	
170 175 180	
TTC GCA CCC AAC TTC CCC ATC TAC TGC GCC TTC CGG CTC CTC TCG	852
Phe Ala Pro Asn Phe Pro Ile Tyr Cys Ala Phe Arg Leu Leu Ser	
185 190 195	
GGC ATG GCT CTG GCT GGC ATC TCC CTC AAC TGC ATG ACA CTG AAT	897
Gly Met Ala Leu Ala Gly Ile Ser Leu Asn Cys Met Thr Leu Asn	
200 205 210	
GTG GAG TGG ATG CCC ATT CAC ACA CGG GCC TGC GTG GGC ACC TTG	942
Val Glu Trp Met Pro Ile His Thr Arg Ala Cys Val Gly Thr Leu	
215 220 225	

ATT GGC TAT GTC TAC AGC CTG GGC CAG TTC CTC CTG GCT GGT GTG	987
Ile Gly Tyr Val Tyr Ser Leu Gly Gln Phe Leu Leu Ala Gly Val	
230 235 240	
GCC TAC GCT GTG CCC CAC TGG CGC CAC CTG CAG CTA CTG GTC TCT	1032
Ala Tyr Ala Val Pro His Trp Arg His Leu Gln Leu Leu Val Ser	
245 250 255	
GCG CCT TTT TTT GCC TTC TTC ATC TAC TCC TGG TTC TTC ATT GAG	1077
Ala Pro Phe Phe Ala Phe Phe Ile Tyr Ser Trp Phe Phe Ile Glu	
260 265 270	
TCG GCC CGC TGG CAC TCC TCC TCC GGG AGG CTG GAC CTC ACC CTG	1122
Ser Ala Arg Trp His Ser Ser Ser Gly Arg Leu Asp Leu Thr Leu	
275 280 285	
AGG GCC CTG CAG AGA GTC GCC CGG ATC AAT GGG AAG CGG GAA GAA	1167
Arg Ala Leu Gln Arg Val Ala Arg Ile Asn Gly Lys Arg Glu Glu	
290 295 300	
GGA GCC AAA TTG AGT ATG GAG GTA CTC CGG GCC AGT CTG CAG AAG	1212
Gly Ala Lys Leu Ser Met Glu Val Leu Arg Ala Ser Leu Gln Lys	
305 310 315	
GAG CTG ACC ATG GGC AAA GGC CAG GCA TCG GCC ATG GAG CTG CTG	1257
Glu Leu Thr Met Gly Lys Gly Gln Ala Ser Ala Met Glu Leu Leu	
320 325 330	
CGC TGC CCC ACC CTC CGC CAC CTC TTC CTC TGC CTC TCC ATG CTG	1302
Arg Cys Pro Thr Leu Arg His Leu Phe Leu Cys Leu Ser Met Leu	
335 340 345	

TGG TTT GCC ACT AGC TTT GCA TAC TAT GGG CTG GTC ATG GAC CTG	1347
Trp Phe Ala Thr Ser Phe Ala Tyr Tyr Gly Leu Val Met Asp Leu	
350 355 360	
CAG GGC TTT GGA GTC AGC ATC TAC CTA ATC CAG GTG ATC TTT GGT	1392
Gln Gly Phe Gly Val Ser Ile Tyr Leu Ile Gln Val Ile Phe Gly	
365 370 375	
GCT GTG GAC CTG CCT GCC AAG CTT GTG GGC TTC CTT GTC ATC AAC	1437
Ala Val Asp Leu Pro Ala Lys Leu Val Gly Phe Leu Val Ile Asn	
380 385 390	
TCC CTG GGT CGC CGG CCT GCC CAG ATG GCT GCA CTG CTG CTG GCA	1482
Ser Leu Gly Arg Arg Pro Ala Gln Met Ala Ala Leu Leu Leu Ala	
395 400 405	
GGC ATC TGC ATC CTG CTC AAT GGG GTG ATA CCC CAG GAC CAG TCC	1527
Gly Ile Cys Ile Leu Leu Asn Gly Val Ile Pro Gln Asp Gln Ser	
410 415 420	
ATT GTC CGA ACC TCT CTT GCT GTG CTG GGG AAG GGT TGT CTG GCT	1572
Ile Val Arg Thr Ser Leu Ala Val Leu Gly Lys Gly Cys Leu Ala	
425 430 435	
GCC TCC TTC AAC TGC ATC TTC CTG TAT ACT GGG GAA CTG TAT CCC	1617
Ala Ser Phe Asn Cys Ile Phe Leu Tyr Thr Gly Glu Leu Tyr Pro	
440 445 450	
ACA ATG ATC CGG CAG ACA GGC ATG GGA ATG GGC AGC ACC ATG GCC	1662
Thr Met Ile Arg Gln Thr Gly Met Gly Met Gly Ser Thr Met Ala	
455 460 465	

CGA GTG GGC AGC ATC GTG AGC CCA CTG GTG AGC ATG ACT GCC GAG	1707
Arg Val Gly Ser Ile Val Ser Pro Leu Val Ser Met Thr Ala Glu	
470 475 480	
CTC TAC CCC TCC ATG CCT CTC TTC ATC TAC GGT GCT GTT CCT GTG	1752
Leu Tyr Pro Ser Met Pro Leu Phe Ile Tyr Gly Ala Val Pro Val	
485 490 495	
GCC GCC AGC GCT GTC ACT GTC CTC CTG CCA GAG ACC CTG GGC CAG	1797
Ala Ala Ser Ala Val Thr Val Leu Leu Pro Glu Thr Leu Gly Gln	
500 505 510	
CCA CTG CCA GAC ACG GTG CAG GAC CTG GAG AGC AGG TGG GCC CCC	1842
Pro Leu Pro Asp Thr Val Gln Asp Leu Glu Ser Arg Trp Ala Pro	
515 520 525	
ACT CAG AAA GAA GCA GGG ATA TAT CCC AGG AAA GGG AAA CAG ACG	1887
Thr Gln Lys Glu Ala Gly Ile Tyr Pro Arg Lys Gly Lys Gln Thr	
530 535 540	
CGA CAG CAA CAA GAG CAC CAG AAG TAT ATG GTC CCA CTG CAG GCC	1932
Arg Gln Gln Gln Glu His Gln Lys Tyr Met Val Pro Leu Gln Ala	
545 550 555	
TCA GCA CAA GAG AAG AAT GGA CTC	1956
Ser Ala Gln Glu Lys Asn Gly Leu	
560 563	
TGAGGACTGA GAAGGGGCCT TACAGAACCC TAAAGGGAGG GAAGGTCCTA CAGGTCTCCG	2016
GCCACCCACA CAAGGAGGAG GAAGAGGAAA TGGTGACCCA AGTGTGGGGG TTGTGGTTCA	2076
GGAAAGCATC TTCCAGGGG TCCACCTCCC TTTATAAACC CCACCAGAAC CACATCATTA	2136
AAAGGTTTGA CTGCGAAAAA AAAAAAAAAA AAAAA	2171

請 求 の 範 囲

1. 以下の(A)、(B)、(C)および(D)から選択されるタンパク質。

(A)配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

5 (B)配列番号1で示されるアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質。

(C)配列番号2で示されるアミノ酸配列からなるタンパク質。

10 (D)配列番号2で示されるアミノ酸配列において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質。

2. ヒト由来である請求項1記載のタンパク質。

3. ラット由来である請求項1記載のタンパク質。

4. 腎臓組織由来である請求項1記載のタンパク質。

15 5. 請求項1記載のタンパク質をコードする遺伝子。

6. 以下の(a)、(b)、(c)および(d)から選択されるDNAからなる遺伝子。

(a)配列番号1で示される塩基配列からなるDNA。

20 (b)配列番号1で示される塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質をコードするDNA。

(c)配列番号2で示される塩基配列からなるDNA。

25 (d)配列番号2で示される塩基配列からなるDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質をコードするDNA。

7. ヒト由来である請求項 6 記載の遺伝子。
8. ラット由来である請求項 6 記載の遺伝子。
9. 腎臓組織由来である請求項 6 記載の遺伝子。
10. 請求項 5～9 のいずれかの項に記載の遺伝子もしくは該遺伝子
5 中のタンパク質をコードする領域を含むプラスミド。
 11. 発現プラスミドである請求項 10 記載のプラスミド。
 12. 請求項 10 記載のプラスミドで形質転換された宿主細胞。
 13. 配列番号 1 または 2 で示される塩基配列の中の連続する 14 塩
基以上の部分配列もしくはその相補的な配列を含むヌクレオチド。
- 10 14. 有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質をコードする
遺伝子を検出するためのプローブとして使用するものである請求項 13
記載のヌクレオチド。
 - 15 15. 有機陰イオンを輸送する能力を有するタンパク質をコードする
遺伝子の発現を変調させるために使用するものである請求項 13 記載の
ヌクレオチド。
 16. 請求項 1～4 のいずれかの項に記載のタンパク質に対する抗体。
 17. 請求項 1～4 のいずれかの項に記載のタンパク質を用いて、該
タンパク質の有する有機陰イオンを輸送する能力に対する被検物質の基質
としての作用を検定する方法。

図 1

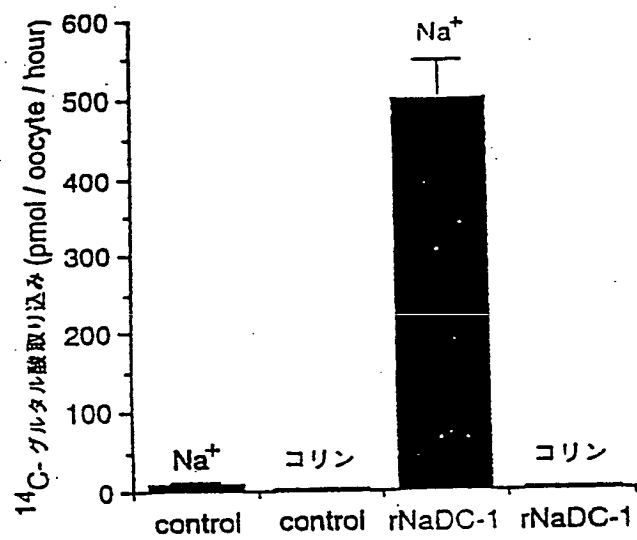
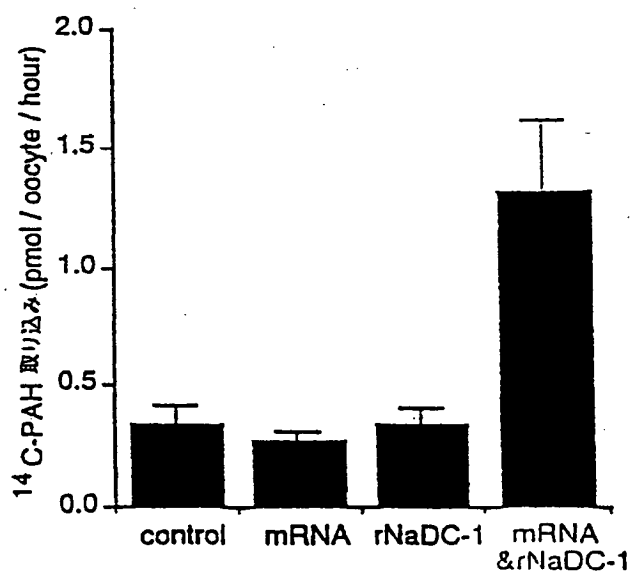


図 2



428 Rec'd PCT/PTO 22 NOV 1999

図 3

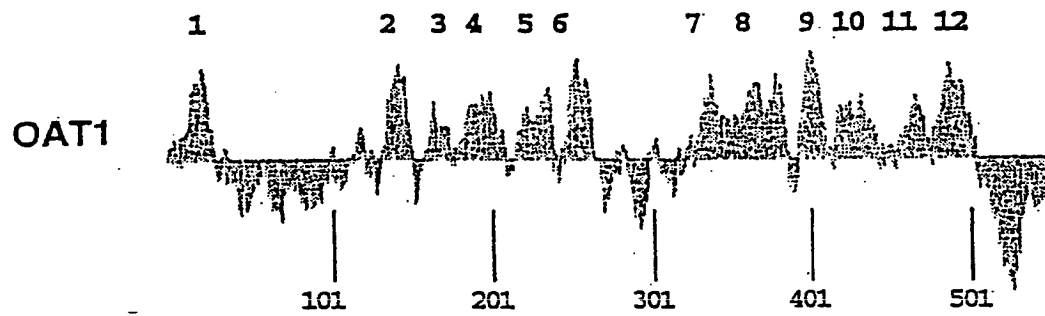
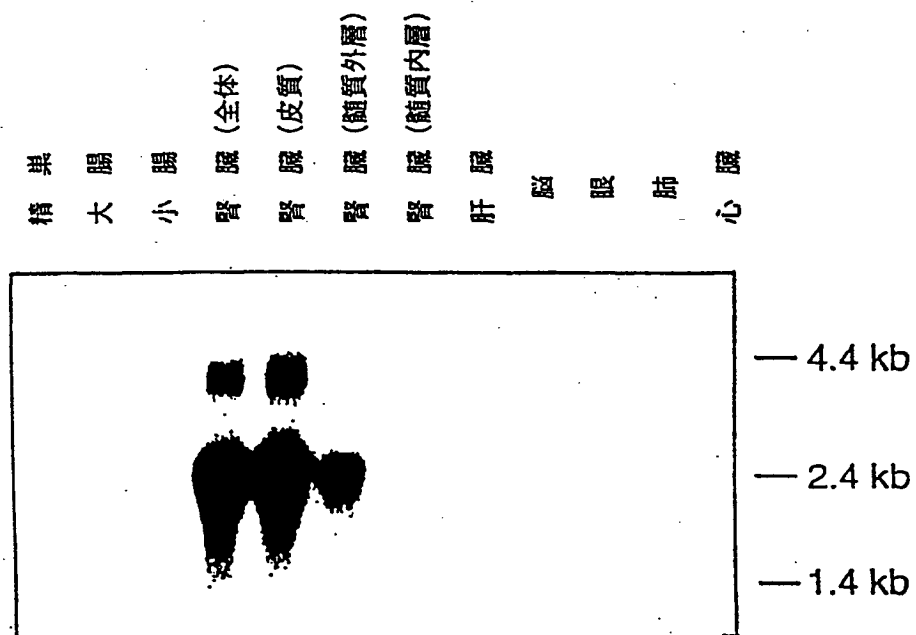


図 4



428 Rec'd PCT/PTO 22 NOV 1999

図 5

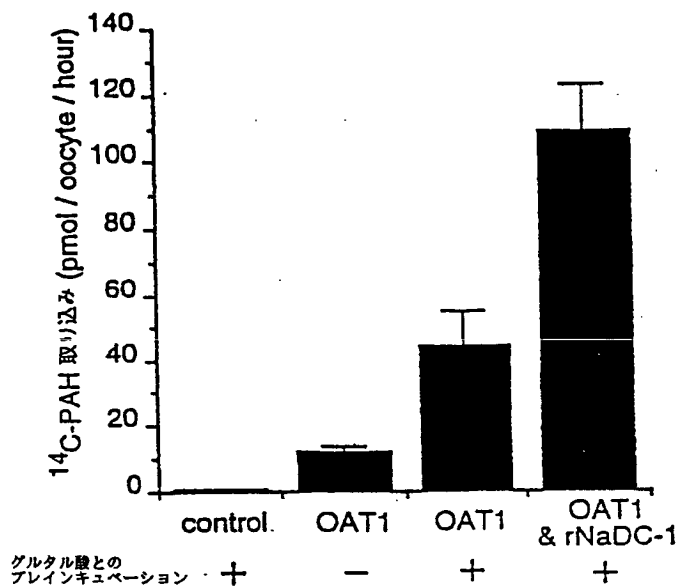
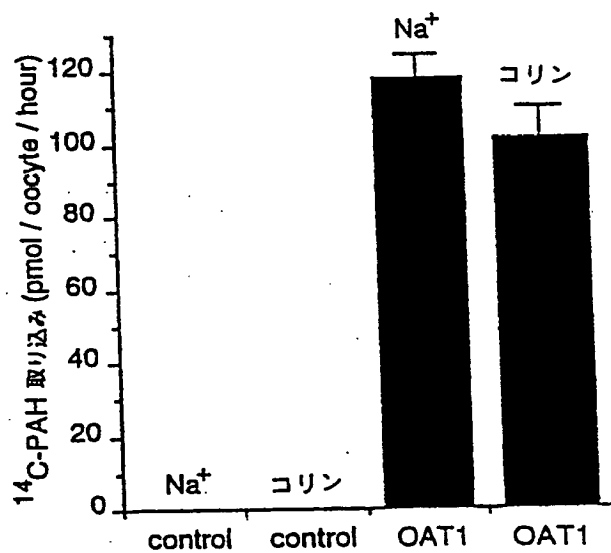


図 6



428 Rec'd PCT/PTO 22 NOV 1999

図 7

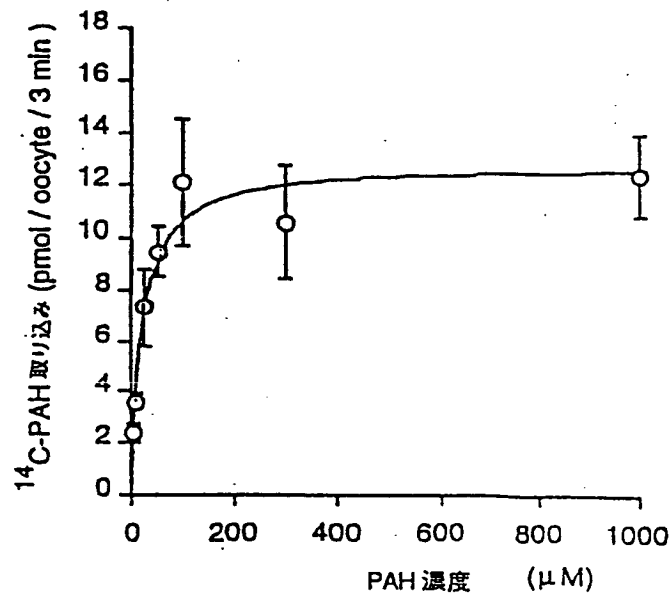
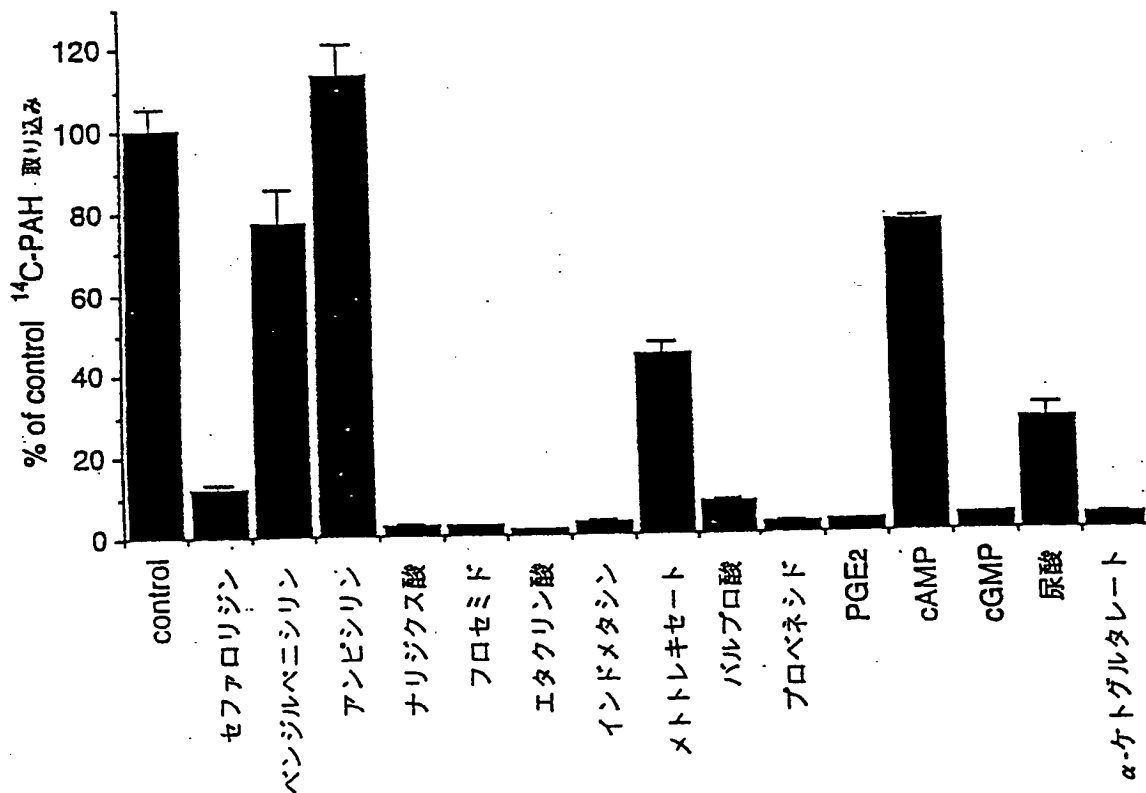
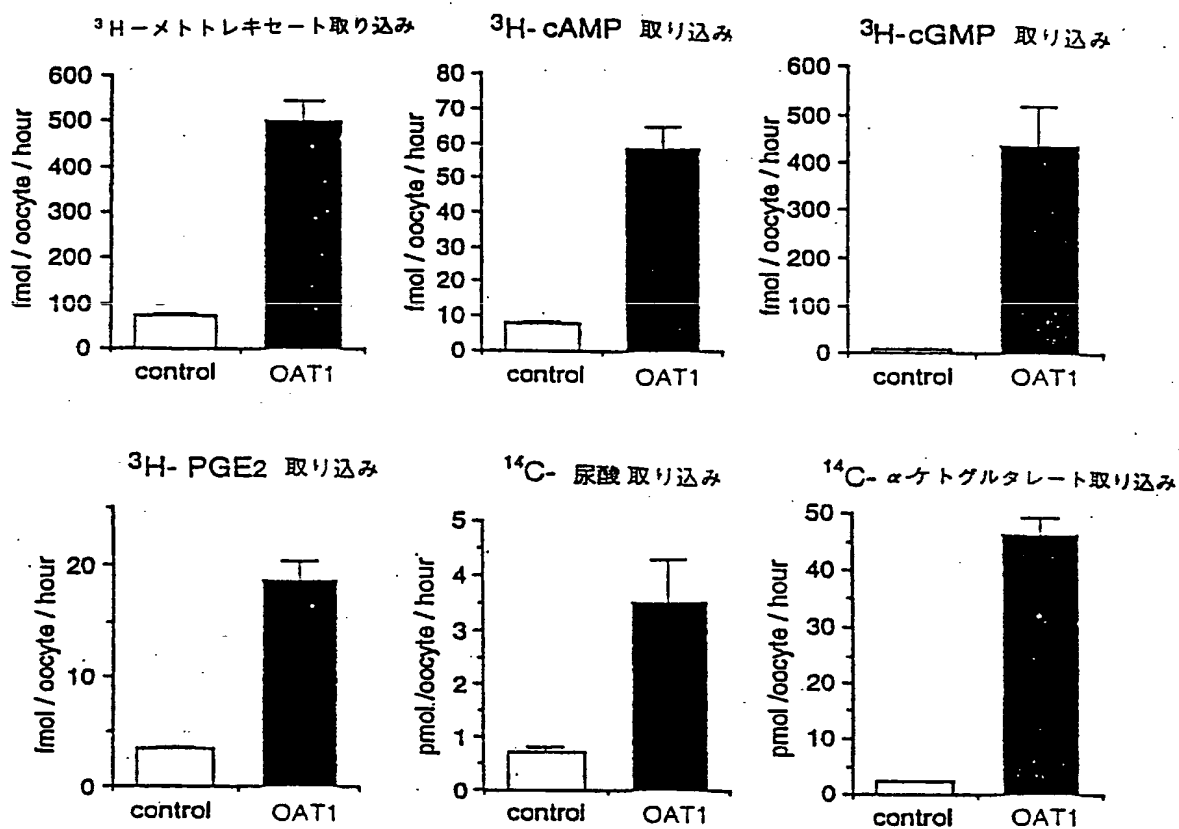


図 8



428 Rec'd PCT/PTO 22 NOV 1999

図 9



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/02171

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ C12N15/12, 15/63, C07K14/47, 16/18, C12Q1/68, C12P21/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ C12N15/12, 15/63, C07K14/47, 16/18, C12Q1/68, C12P21/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

SwissProt/PIR/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Lopez-Nieto, C.E., et al., "Molecular cloning and characterization of NKT, a gene product related to the organic cation transporter family that is almost exclusively expressed in the kidney", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 10 (07. 03. 1997), pp.6471-6478	1-17
X A	Adams, M.D., et al., "Rapid cDNA sequencing (expressed sequence tags) from a directionally cloned human infant brain cDNA library", Nature Genetics, Vol. 4, No. 4 (1993), pp.373-380	1-16 17
X A	Adams, M.D., et al., "Complementary DNA Sequencing: Expressed Sequence Tags and Human Genome Project", Science, Vol. 252, No. 5013 (1991), pp.1651-1656	1-16 17
X A	Adams, M.D., et al., "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence", Nature, Vol. 377, No. 6547 Suppl. (1995), pp.3-174	1-16 17

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
August 7, 1998 (07. 08. 98)Date of mailing of the international search report
August 18, 1998 (18. 08. 98)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/02171

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	DDBJ. LOCUS; AA269606 514bp mRNA EST 26-MAR-1997, ACCESSION; AA269606, Marra, M., et al., "DEFINITION va61f06. r1 Soares mouse 3NME12 5 Mus musculus cDNA clone 735875 5' similar to TR:G1293672 G1293672 KIDNEY-SPECIFIC TRANSPORT PROTEIN.;, mRNA sequence".	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; AA124333 501bp mRNA EST 13-FEB-1997, ACCESSION; AA124333, Marra, M., et al. "DEFINITION mq28a09.r1 Barstead MPLRB1 Mus musculus cDNA clone 580024 5' similar to TR:G1293672 G1293672 KIDNEY-SPECIFIC TRANSPORT PROTEIN;;, mRNA sequence".	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; W34761 368bp mRNA EST 13-MAY-1996, ACCESSION; W34761, Marra, M., et al., "DEFINITION mc60h03.r1 Soares mouseembryo NbME13.5 14.5 Mus musculus cDNA clone 35249.5', mRNA sequence".	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; R25797 430 bp mRNA EST 24-APR-1995, ACCESSION; R25797, Hillier, L., et al., "DEFINITION yg54b04.r1 Soares infant brain lNIB Homo sapiens cDNA clone 36482 5', mRNA sequence".	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS; R46796 396bp mRNA EST 22-MAY-1995, ACCESSION; R46797, Hillier, L., et al., "DEFINITION yg54b04.s1 Soares infant brain lNIB Homo sapiens cDNA clone 36482 5', mRNA sequence".	1-16 17
P, X	Sekine, T., et al., "Expression cloning and characterization of a novel multispecific organic anion transporter". The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 30 (25. 07. 1997), pp.18526-18529	1-17
P, X	Wolff, N.A., et al., "Expression cloning and characterization of a renal organic anion transporter from winter flounder". FEBS Letters, Vol. 417, No. 3 (17. 11. 1997), pp.287-291	1-17
P, X	Sweet, D.H., et al., "Expression cloning and characterization of ROAT1. The basolateral organic anion transporter in rat kidney". The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 48 (28. 11. 1997), pp.30088-30095	1-17
P, X P, Y	Mori, K., et al., "Kidney-specific expression of a novel mouse organic cation transporter-like protein". FEBS Letters, Vol. 417, No. 3 (17. 11. 1997), pp.371-374	1-16 17

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C12N15/12, 15/63, C07K14/47, 16/18, C12Q1/68,
C12P21/08

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C12N15/12, 15/63, C07K14/47, 16/18, C12Q1/68,
C12P21/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DBJ/GenSeq
SwissProt/PIR/GenSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Lopez-Nieto, C. E., et al. "Molecular cloning and characterization of NKT, a gene product related to the organic cation transporter family that is almost exclusively expressed in the kidney", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 10 (07.03.1997), pp. 6471-6478	1-17
X A	Adams, M. D., et al. "Rapid cDNA sequencing (expressed sequence tags) from a directionally cloned human infant brain cDNA library", Nature Genetics, Vol. 4, No. 4 (1993), pp. 373-380	1-16 17
X A	Adams, M. D., et al. "Complementary DNA Sequencing: Expressed Sequence Tags and Human Genome Project", Science, Vol. 252, No.	1-16 17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリ

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07.08.98

国際調査報告の発送日

18.08.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

村上 騎見高



4B

8827

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	5013(1991), pp. 1651-1656	
X A	Adams, M. D., et al. "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence", Nature, Vol. 377, No. 6547 Suppl. (1995), pp. 3-174	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS:AA269606 514bp mRNA EST 26-MAR-1997, ACCESSION; AA269606, Marra, M., et al. "DEFINITION va61f06.r1 Soares mouse 3NME12 5 Mus musculus cDNA clone 735875 5' similar to TR:G1293672 G1293672 KIDNEY-SPECIFIC TRANSPORT PROTEIN. ;, mRNA sequence."	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS:AA124333 501bp mRNA EST 13-FEB-1997, ACCESSION; AA124333, Marra, M., et al. "DEFINITION mq28a09.r1 Barstead MPLRB1 Mus musculus cDNA clone 580024 5' similar to TR:G1293672 G1293672 KIDNEY-SPECIFIC TRANSPORT PROTEIN. ;, mRNA sequence."	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS:W34761 368bp mRNA EST 13-MAY-1996, ACCESSION; W34761, Marra, M., et al. "DEFINITION mc60h03.r1 Soares mouse embryo NbME13.5 14.5 Mus musculus cDNA clone 35249.5', mRNA sequence."	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS:R25797 430bp mRNA EST 24-APR-1995, ACCESSION; R25797, Hillier, L., et al. "DEFINITION yg54b04.r1 Soares infant brain 1NIB Homo sapiens cDNA clone 36482 5', mRNA sequence."	1-16 17
X A	DDBJ, LOCUS:R46796 396bp mRNA EST 22-MAY-1995, ACCESSION; R46797, Hillier, L., et al. "DEFINITION yg54b04.s1 Soares infant brain 1NIB Homo sapiens cDNA clone 36482 5', mRNA sequence."	1-16 17
P, X	Sekine, T., et al. "Expression cloning and characterization of a novel multispecific organic anion transporter.", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 30(25. 07. 1997), pp. 18526-18529	1-17
P, X	Wolff, N. A., et al. "Expression cloning and characterization of a renal organic anion transporter from winter flounder.", FEBS Letters, Vol. 417, No. 3(17. 11. 1997), pp. 287-291	1-17
P, X	Sweet, D. H., et al. "Expression cloning and characterization of ROAT1. The basolateral organic anion transporter in rat kidney.", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 48 (28. 11. 1997), pp. 30088-30095	1-17
P, X P, Y	Mori, K., et al. "Kidney-specific expression of a novel mouse organic cation transporter-like protein.", FEBS Letters, Vol. 417, No. 3(17. 11. 1997), pp. 371-374	1-16 17

PCT

09/424347

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 660807	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/02171	国際出願日 (日.月.年) 18.05.98	優先日 (日.月.年) 23.05.97
出願人(氏名又は名称) 遠藤 仁		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。
2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。
3. ☒ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。
 - ☐ この国際出願と共に提出されたもの
 - ☒ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの
 - ☒ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない
 - ☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は
 - ☒ 出願人が提出したものを承認する。
 - ☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は
 - ☒ 出願人が提出したものを承認する。
 - ☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 _____ 図とする。
 - ☐ 出願人が示したとおりである。
 - ☒ なし
 - ☐ 出願人は図を示さなかった。
 - ☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ C12N15/12, 15/63, C07K14/47, 16/18, C12Q1/68,
C12P21/08

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁸ C12N15/12, 15/63, C07K14/47, 16/18, C12Q1/68,
C12P21/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq
SwissProt/PIR/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Lopez-Nieto, C. E., et al. "Molecular cloning and characterization of NKT, a gene product related to the organic cation transporter family that is almost exclusively expressed in the kidney", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 10 (07. 03. 1997), pp. 6471-6478	1-17
X A	Adams, M. D., et al. "Rapid cDNA sequencing (expressed sequence tags) from a directionally cloned human infant brain cDNA library", Nature Genetics, Vol. 4, No. 4 (1993), pp. 373-380	1-16 17
X A	Adams, M. D., et al. "Complementary DNA Sequencing: Expressed Sequence Tags and Human Genome Project", Science, Vol. 252, No.	1-16 17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07. 08. 98

国際調査報告の発送日

18.08.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

村上 騎見高



4 B

8827

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

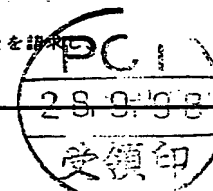
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	5013(1991), pp. 1651-1656	
X A	Adams, M. D., et al. "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence", Nature, Vol. 377, No. 6547 Suppl. (1995), pp. 3-174	1 - 1 6 1 7
X A	DDBJ, LOCUS; AA269606 514bp mRNA EST 26-MAR-1997, ACCESSION; AA269606, Marra, M., et al. "DEFINITION va6lf06.r1 Soares mouse 3NME12 5 Mus musculus cDNA clone 735875 5' similar to TR:G1293672 G1293672 KIDNEY-SPECIFIC TRANSPORT PROTEIN. ; mRNA sequence."	1 - 1 6 1 7
X A	DDBJ, LOCUS; AA124333 501bp mRNA EST 13-FEB-1997, ACCESSION; AA124333, Marra, M., et al. "DEFINITION mq28a09.r1 Barstead MPLRB1 Mus musculus cDNA clone 580024 5' similar to TR:G1293672 G1293672 KIDNEY-SPECIFIC TRANSPORT PROTEIN. ; mRNA sequence."	1 - 1 6 1 7
X A	DDBJ, LOCUS; W34761 368bp mRNA EST 13-MAY-1996, ACCESSION; W34761, Marra, M., et al. "DEFINITION mc60h03.r1 Soares mouse embryo NbME13.5 14.5 Mus musculus cDNA clone 35249.5', mRNA sequence."	1 - 1 6 1 7
X A	DDBJ, LOCUS; R25797 430bp mRNA EST 24-APR-1995, ACCESSION; R25797, Hillier, L., et al. "DEFINITION yg54b04.r1 Soares infant brain 1NIB Homo sapiens cDNA clone 36482 5', mRNA sequence."	1 - 1 6 1 7
X A	DDBJ, LOCUS; R46796 396bp mRNA EST 22-MAY-1995, ACCESSION; R46797, Hillier, L., et al. "DEFINITION yg54b04.s1 Soares infant brain 1NIB Homo sapiens cDNA clone 36482 5', mRNA sequence."	1 - 1 6 1 7
P, X	Sekine, T., et al. "Expression cloning and characterization of a novel multispecific organic anion transporter.", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 30 (25. 07. 1997), pp. 18526-18529	1 - 1 7
P, X	Wolff, N. A., et al. "Expression cloning and characterization of a renal organic anion transporter from winter flounder.", FEBS Letters, Vol. 417, No. 3 (17. 11. 1997), pp. 287-291	1 - 1 7
P, X	Sweet, D. H., et al. "Expression cloning and characterization of ROAT1. The basolateral organic anion transporter in rat kidney.", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 48 (28. 11. 1997), pp. 30088-30095	1 - 1 7
P, X P, Y	Mori, K., et al. "Kidney-specific expression of a novel mouse organic cation transporter-like protein.", FEBS Letters, Vol. 417, No. 3 (17. 11. 1997), pp. 371-374	1 - 1 6 1 7

特許協力条約に基づく国際出願

第二章

国際予備審査請求書

出願人は、次の国際出願が特許協力条約に従って国際予備審査の対象とされることを請求し、
選択資格のある全ての国を選択する。ただし、特段の表示がある場合を除く。



国際予備審査機関記入欄		
国際予備審査機関の確認		請求書の受理の日
第 I 欄 国際出願の表示	出願人又は代理人の書類記号 660807	
国際出願番号 PCT/J P 98/02171	国際出願日 (日. 月. 年) 18.05.98	優先日 (最先のもの) (日. 月. 年) 23.05.97
発明の名称 有機陰イオントランスポーターおよびその遺伝子		
第 II 欄 出願人		
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		電話番号:
遠藤 仁 ENDOU Hitoshi 〒229-0022 日本国神奈川県相模原市由野台1丁目23-7 23-7, Yoshinodai 1-chome, Sagamihara-shi, KANAGAWA 229-0022 JAPAN		ファクシミリ番号:
		加入電話番号:
国籍 (国名): 日本国 JAPAN	住所 (国名): 日本国 JAPAN	
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		
田辺製薬株式会社 TANABE SEIYAKU CO., LTD. 〒541-8505 日本国大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号 2-10, Dosho-machi 3-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, OSAKA 541-8505 JAPAN		
国籍 (国名): 日本国 JAPAN	住所 (国名): 日本国 JAPAN	
氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)		
金井 好克 KANAI Yoshikatsu 〒193-0932 日本国東京都八王子市緑町214-102 214-102, Midori-cho, Hachioji-shi, TOKYO 193-0932 JAPAN		
国籍 (国名): 日本国 JAPAN	住所 (国名): 日本国 JAPAN	
<input checked="" type="checkbox"/> その他の出願人が続表に記載されている。		

第II欄の続き 出願人

この第II欄の続きを使用しないときは、この用紙を国際予備審査請求書に含めないこと。

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

関根 孝司 SEKINE Takashi

〒190-0003 日本国東京都立川市栄町1丁目10-47

10-47, Sakae-cho 1-chome, Tachikawa-shi, TOKYO

190-0003 JAPAN

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

細山田 真 HOSOYAMADA Makoto

〒181-0013 日本国東京都三鷹市下連雀3丁目42-4-301

42-4-301, Shimorenjaku 3-chome, Mitaka-shi, TOKYO

181-0013 JAPAN

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

国籍(国名):

住所(国名):

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

国籍(国名):

住所(国名):

☐ その他の出願人が他の続葉に記載されている。

第III欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

下記に記載された者は、☒ 代理人 又は ☐ 共通の代表者 として

☒ 既に選任された者であつて、国際予備審査についても出願人を代理する者である。

☐ 今回新たに選任された者である。 先に選任されていた代理人又は共通の代表者は解任された。

☐ 既に選任された代理人又は共通の代表者に加えて、特に国際予備審査機関に対する手続きのために、今回新たに選任された者である。

氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

6214 弁理士 青山 稜 AOYAMA Tamotsu
6852 弁理士 田村 恭生 TAMURA Yasuo
〒540-0001 日本国大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号
IMPビル 青山特許事務所

Aoyama & Partners, IMP Building, 3-7, Shiromi 1-chome,
Chuo-ku, Osaka-shi, OSAKA 540-0001 JAPAN

電話番号：

06-949-1261

ファクシミリ番号：

06-949-0361

加電電話番号：

☐ 通知のためのあて名： 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

第IV欄 国際予備審査に対する基本事項

補正に関する記述：*

1. 出願人は、次のものを基礎として国際予備審査を開始することを希望する。

☒ 出願時の国際出願を基礎とすること。

☐ 明細書に関して

☐ 出願時のものを基礎とすること。

☐ 特許協力条約第34条の規定に基づいてなされた補正を基礎とすること。

☐ 請求の範囲に関して

☐ 出願時のものを基礎とすること。

☐ 特許協力条約第19条の規定に基づいてなされた補正（添付した説明書も含む）を基礎とすること。

☐ 特許協力条約第34条の規定に基づいてなされた補正を基礎とすること。

☐ 図面に関して

☐ 出願時のものを基礎とすること。

☐ 特許協力条約第34条の規定に基づいてなされた補正を基礎とすること。

2. ☐ 出願人は、特許協力条約第19条の規定に基づく請求の範囲に関する補正を差し替えることによって考慮されることを望む。

3. ☐ 出願人は、国際予備審査の開始が優先日から20月経過後まで延期されることを望む（ただし、国際予備審査機関が、特許協力条約第19条の規定に基づき行われた補正書の写しの受領、又は当該補正を希望しない旨の出願人からの通知を受領した場合を除く（規則69.1(d)）。
（この口は、特許協力条約第19条の規定に基づく期間が満了していない場合にも、レ印を付すことができる。）

* 記入がない場合は、1) 補正がないか又は国際予備審査機関が補正（原本又は写し）を受領していないときは、出願時の国際出願を基礎に予備審査を開始され、2) 国際予備審査機関が、見解書又は予備審査報告書の作成開始前に補正（原本又は写し）を受領したときは、これらの補正を考慮して予備審査が開始又は続行される。

国際予備審査を行うための言語は、日本語であり、

☒ 国際出願の提出時の言語である。

☐ 国際調査のために提出した翻訳文の言語である。

☐ 国際出願の公開の言語である。

☐ 国際予備審査の目的のために提出した翻訳文の言語である。

第V欄 国の選択

出願人は、選択資格のある全ての指定国（即ち、既に出願人によって指定されており、かつ特許協力条約第II章に拘束されている国）を選択する。

ただし、出願人は次の国の選択を希望しない。：

第VI欄 照合欄

この国際予備審査請求書には、国際予備審査のために、第IVに記載する言語による書類が添付されている。

国際予備審査機関記入欄

- | | | | |
|------------------------------------------------|---|--------------------------|--------------------------|
| 1. 国際出願の翻訳文 | 枚 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. 特許協力条約第34条の規定に基づく補正書 | 枚 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. 特許協力条約第19条の規定に基づく補正書
(又は、要求された場合は翻訳文)の写し | 枚 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. 特許協力条約第19条の規定に基づく説明書
(又は、要求された場合は翻訳文)の写し | 枚 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. 書類 | 枚 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. その他 (書類名を具体的に記載する) : | 枚 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

受 領 未 受 領

この国際予備審査請求書には、さらに下記の書類が添付されている。

- | | |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 1. <input checked="" type="checkbox"/> 手数料計算用紙 | 3. <input type="checkbox"/> 包括委任状の写し |
| <input checked="" type="checkbox"/> 納付した手数料に相当する特許印紙を
貼付した書面 | 4. <input type="checkbox"/> 記名押印 (署名) に関する説明書 |
| <input checked="" type="checkbox"/> 国際事務局の口座への振込を証明する書面 | 5. <input type="checkbox"/> スクロエチド又はアミシノ酸配列表
(スクレキシブルディスク) |
| 2. <input type="checkbox"/> 別個の記名押印された委任状 | 6. <input type="checkbox"/> その他 (書類名を具体的に記載する) : |

第VII欄 提出者の記名押印

各人の氏名 (名称) を記載し、その次に押印する。

青山 葆



国際予備審査機関記入欄

- 国際予備審査請求書の実際の受理の日
- 規則 60.1(b)の規定による国際予備審査請求書の受理の日の訂正後の日付
- ☐ 優先日から19月を経過後の国際予備審査請求書の受理。ただし、以下の4. 5の項目にはあてはまらない。 ☐ 出願人に通知した。
- ☐ 規則 80.5により延長が認められている優先日から19月の期間内の国際予備審査請求書の受理
- ☐ 優先日から19月を経過後の国際予備審査請求書の受理であるが規則82により認められる。

国際事務局記入欄

国際予備審査請求書の国際予備審査機関からの受領の日:

P C T

手 数 料 計 算 用 紙

国際予備審査請求書の附属書

国際予備審査機関記入欄

国際出願番号

PCT/JP98/02171

出願人又は代理人の書類記号

660807

国際予備審査機関の日付印

出願人

遠藤 仁

所定の手数料の計算

1. 特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律（国内法）
第18条第1項第4号の規定による手数料
（予備審査請求料）（注1）

28,000

円 P

2. 取扱手数料（注2）

19,700

円 H

3. 所定の手数料の合計

P及びHに記入した金額を加算し、合計額を合計に記入・・・

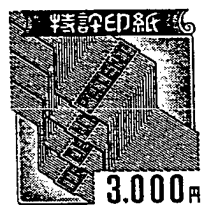
47,700

円

合 計

（注1）法第18条第1項第4号の規定による手数料については、特許印紙をもって納付しなければならない。

（注2）取扱手数料については、国際予備審査機関である日本国特許庁の長官が告示する国際事務局の口座への振り込みを証明する書面を提出することにより納付しなければならない。



予備審査請求料 28,000円

預金払戻請求書・預金口座振替による 振込受付書(兼手数料受取書)
振込金受取書(兼手数料受取書)

未収	特記	一括 契約	後取り明細	領収済	消費税込手数料
		Q	200	現・振	

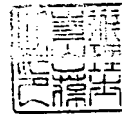
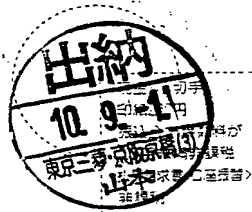
(注) 消費税が含まれています。

振込先銀行 支店	口座番号	お受取人	金額	振込手数料
1 東京三菱 (内幸町) (店番)	0473286	フリガナ ワイパビーシネ、ジェネブ -WIPO-PCT, Geneva様	19,700	100
2 東京三菱 (店番)		フリガナ 様		200
お受取人 でんわ (市外局番) 局 番				400
ご依頼人 フリガナ アイヤマトツオ ジムシヨ			合計	
おなまえ 青山特許事務所 様			小切手等	
おとところ ご連絡先でんわ(市外局番) 06) 949 局 1261 番				円
大阪市中央区城見1丁目3番7号				円
IMPビル				円

- 振込先銀行へは、受取人名のほか預金種目・口座番号を通知します。受取人名等はカナ文字により送信します。
- 振込依頼書に記載相違等の不備があった場合には、照会等のために振込が遅延したり、振込ができないことがあります。
- 通信機器、回線の障害または郵便物の遅延等やむを得ない事由によって、振込が遅延することがありますのでご了承ください。
- ご指定の口座から預金を払戻して振込む場合、その払戻しができないときは振込ができませんのでご注意ください。

- この振込受付書は、振込ができない場合などに必要となりますので、ご依頼人が大切に保管してください。
- 上記の小切手等が不渡りとなったときは、その金額の振込を取消し、小切手等は権利保全の手続きをしないで、当店において返却します。

ご利用くださいまして
ありがとうございました。



株式会社 東京三菱銀行

支店 33230 3/3 86 96.11 921

取扱手数料 19,700円

特許協力条約に基づく国際出願

願 書

出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。

受理官庁記入欄	
国際出願番号	09/424347
国際出願日	13.5.98
(受付印)	受領印
出願人又は代理人の書類記号 (希望する場合、最大12字)	660807

第 I 欄 発明の名称

有機陰イオントランスポーターおよびその遺伝子

第 II 欄 出願人

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

遠藤 仁 ENDOU Hitoshi

〒229-0022 日本国神奈川県相模原市由野台1丁目23-7

23-7, Yoshinodai 1-chome, Sagami-hara-shi, KANAGAWA

229-0022 JAPAN

☒ この欄に記載した者は、
発明者でもある。

電話番号:

ファクシミリ番号:

加入電話番号:

国籍 (国名): 日本国 JAPAN

住所 (国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である:

☒ すべての指定国

☐ 米国を除くすべての指定国

☐ 米国のみ

☐ 追記欄に記載した指定国

第 III 欄 その他の出願人又は発明者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

田辺製薬株式会社

TANABE SEIYAKU CO., LTD.

〒541-8505 日本国大阪府大阪市中央区道修町3丁目2番10号

2-10, Dosho-machi 3-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, OSAKA

541-8505 JAPAN

この欄に記載した者は
次に該当する:

☒ 出願人のみである。

☐ 出願人及び発明者である。

☐ 発明者のみである。
(ここにレ印を付したとき
は、以下に記入しないこと)

国籍 (国名): 日本国 JAPAN

住所 (国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国

☒ 米国を除くすべての指定国

☐ 米国のみ

☐ 追記欄に記載した指定国

☒ その他の出願人又は発明者が続葉に記載されている。

第 IV 欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する:

☒ 代理人

☐ 共通の代表者

氏名 (名称) 及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

6214 弁理士 青山 稔 AOYAMA Tamotsu

6852 弁理士 田村 恭生 TAMURA Yasuo

〒540-0001 日本国大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号

IMPビル 青山特許事務所

Aoyama & Partners, IMP Building, 3-7, Shiromi 1-chome,

Chuo-ku, Osaka-shi, OSAKA 540-0001 JAPAN

電話番号:

06-949-1261

ファクシミリ番号:

06-949-0361

加入電話番号:

☐ 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す

第Ⅲ欄の続き、その他の出願人又は発明者

この続表を使用しないときは、この用紙を願書に含めないこと。

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

金井 好克 KANAI Yoshikatsu
 〒193-0932 日本国東京都八王子市緑町214-102
 214-102, Midori-cho, Hachioji-shi, TOKYO
 193-0932 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☒ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

関根 孝司 SEKINE Takashi
 〒190-0003 日本国東京都立川市栄町1丁目10-47
 10-47, Sakae-cho 1-chome, Tachikawa-shi, TOKYO
 190-0003 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☒ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

細山田 真 HOSOYAMADA Makoto
 〒181-0013 日本国東京都三鷹市下連雀3丁目42-4-301
 42-4-301, Shimorenjaku 3-chome, Mitaka-shi, TOKYO
 181-0013 JAPAN

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☒ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 JAPAN

住所(国名): 日本国 JAPAN

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☒ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国

氏名(名称)及びあて名:(姓・名の順に記載;法人は公式の完全な名称を記載;あて名は郵便番号及び国名も記載)

この欄に記載した者は、次に該当する:

- ☐ 出願人のみである。
☐ 出願人及び発明者である。
☐ 発明者のみである。
 (ここに印を付したときは、以下に記入しないこと)

国籍(国名):

住所(国名):

この欄に記載した者は、次の指定国についての出願人である:

☐ すべての指定国☐ 米国を除くすべての指定国☐ 米国のみ☐ 追記欄に記載した指定国☐ その他の出願人又は発明者が他の続表に記載されている。

第V欄 国の指定

規則 4.9 (a) の規定に基づき次の指定を行う (該当する□にレ印を付すこと; 少なくとも1つの□にレ印を付すこと)。

広域特許

- ☐ **AP** **ARIPO** 特許: **GH** ガーナ Ghana, **GM** ガンビア Gambia, **KE** ケニア Kenya, **LS** レソト Lesotho, **MW** マラウイ Malawi, **SD** スーダン Sudan, **SZ** スワジランド Swaziland, **UG** ウガンダ Uganda, **ZW** ジンバブエ Zimbabwe, 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締結国である他の国
- ☐ **EA** ユーラシア特許: **AM** アルメニア Armenia, **AZ** アゼルバイジャン Azerbaijan, **BY** ベラルーシ Belarus, **KG** キルギスタン Kyrgyzstan, **KZ** カザフスタン Kazakhstan, **MD** モルドヴァ Republic of Moldova, **RU** ロシア連邦 Russian Federation, **TJ** タジキスタン Tajikistan, **TM** トルクメニスタン Turkmenistan, 及びユーラシア特許条約と特許協力条約の締結国である他の国
- ☐ **EP** ヨーロッパ特許: **AT** オーストリア Austria, **BE** ベルギー Belgium, **CH** and **LI** スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, **DE** ドイツ Germany, **DK** デンマーク Denmark, **ES** スペイン Spain, **FI** フィンランド Finland, **FR** フランス France, **GB** 英国 United Kingdom, **GR** ギリシャ Greece, **IE** アイルランド Ireland, **IT** イタリア Italy, **LU** ルクセンブルグ Luxembourg, **MC** モナコ Monaco, **NL** オランダ Netherlands, **PT** ポルトガル Portugal, **SE** スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締結国である他の国
- ☐ **OA** **OAPI** 特許: **BF** ブルキナ・ファソ Burkina Faso, **BJ** ベニン Benin, **CF** 中央アフリカ Central African Republic, **CG** コンゴ Congo, **CI** 象牙海岸 Côte d'Ivoire, **CM** カメルーン Cameroon, **GA** ガボン Gabon, **GN** ギニア Guinea, **ML** マリ Mali, **MR** モーリタニア Mauritania, **NE** ニジェール Niger, **SN** セネガル Senegal, **TD** チャード Chad, **TG** トーゴ Togo, 及びアフリカ知的財産条約と特許協力条約の締結国である他の国 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する)

国内特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線の上に記載する)

- | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> AL アルバニア Albania | <input type="checkbox"/> LU ルクセンブルグ Luxembourg |
| <input type="checkbox"/> AM アルメニア Armenia | <input type="checkbox"/> LV ラトヴィア Latvia |
| <input type="checkbox"/> AT オーストリア Austria | <input type="checkbox"/> MD モルドヴァ Republic of Moldova |
| <input type="checkbox"/> AU オーストラリア Australia | <input type="checkbox"/> MG マダガスカル Madagascar |
| <input type="checkbox"/> AZ アゼルバイジャン Azerbaijan | <input type="checkbox"/> MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| <input type="checkbox"/> BA ボスニア・ヘルツェゴビナ Bosnia and Herzegovina | |
| <input type="checkbox"/> BB バルバドス Barbados | <input type="checkbox"/> MN モンゴル Mongolia |
| <input type="checkbox"/> BG ブルガリア Bulgaria | <input type="checkbox"/> MW マラウイ Malawi |
| <input type="checkbox"/> BR ブラジル Brazil | <input type="checkbox"/> MX メキシコ Mexico |
| <input type="checkbox"/> BY ベラルーシ Belarus | <input type="checkbox"/> NO ノルウェー Norway |
| <input type="checkbox"/> CA カナダ Canada | <input type="checkbox"/> NZ ニュー・ジーランド New Zealand |
| <input type="checkbox"/> CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein | <input type="checkbox"/> PL ポーランド Poland |
| <input type="checkbox"/> CN 中国 China | <input type="checkbox"/> PT ポルトガル Portugal |
| <input type="checkbox"/> CU キューバ Cuba | <input type="checkbox"/> RO ルーマニア Romania |
| <input type="checkbox"/> CZ チェッコ Czech Republic | <input type="checkbox"/> RU ロシア連邦 Russian Federation |
| <input type="checkbox"/> DE ドイツ Germany | <input type="checkbox"/> SD スーダン Sudan |
| <input type="checkbox"/> DK デンマーク Denmark | <input type="checkbox"/> SE スウェーデン Sweden |
| <input type="checkbox"/> EE エストニア Estonia | <input type="checkbox"/> SG シンガポール Singapore |
| <input type="checkbox"/> ES スペイン Spain | <input type="checkbox"/> SI スロヴェニア Slovenia |
| <input type="checkbox"/> FI フィンランド Finland | <input type="checkbox"/> SK スロヴァキア Slovakia |
| <input type="checkbox"/> GB 英国 United Kingdom | <input type="checkbox"/> SL シエラレオネ Sierra Leone |
| <input type="checkbox"/> GE グルジア Georgia | <input type="checkbox"/> TJ タジキスタン Tajikistan |
| <input type="checkbox"/> GH ガーナ Ghana | <input type="checkbox"/> TM トルクメニスタン Turkmenistan |
| <input type="checkbox"/> GM ガンビア Gambia | <input type="checkbox"/> TR トルコ Turkey |
| <input type="checkbox"/> GW ギニアビサウ Guinea-Bissau | <input type="checkbox"/> TT トリニダード・トバゴ Trinidad and Tobago |
| <input type="checkbox"/> HU ハンガリー Hungary | <input type="checkbox"/> UA ウクライナ Ukraine |
| <input type="checkbox"/> ID インドネシア Indonesia | <input type="checkbox"/> UG ウガンダ Uganda |
| <input type="checkbox"/> IL イスラエル Israel | <input type="checkbox"/> US 米国 United States of America |
| <input type="checkbox"/> IS アイスランド Iceland | |
| <input type="checkbox"/> JP 日本 Japan | <input type="checkbox"/> UZ ウズベキスタン Uzbekistan |
| <input type="checkbox"/> KE ケニア Kenya | <input type="checkbox"/> VN ヴィエトナム Viet Nam |
| <input type="checkbox"/> KG キルギスタン Kyrgyzstan | <input type="checkbox"/> YU ユーゴスラヴィア Yugoslavia |
| <input type="checkbox"/> KR 韓国 Republic of Korea | <input type="checkbox"/> ZW ジンバブエ Zimbabwe |
| <input type="checkbox"/> KZ カザフスタン Kazakhstan | |
| <input type="checkbox"/> LC セントルシア Saint Lucia | |
| <input type="checkbox"/> LK スリ・ランカ Sri Lanka | |
| <input type="checkbox"/> LR リベリア Liberia | |
| <input type="checkbox"/> LS レソト Lesotho | |
| <input type="checkbox"/> LT リトアニア Lithuania | |

以下の□は、この様式の施行後に特許協力条約の締結国となった国を指定 (国内特許のために) するためのものである

<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	

出願人は、上記の指定に加えて、規則 4.9 (b) の規定に基づき、特許協力条約の下で認められる全ての国の指定を行う。

の国の指定を除く。

ただし、出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。 (指定の確認は、指定を特定する通知の提出と指定手数料及び確認手数料の納付からなる。この確認は、優先日から15月以内に受理官庁へ提出されなければならない。)

第 VI 欄 優先権主張

他の優先権の主張（先の出願）が追記欄に記載されている ☐

下記の先の出願に基づき優先権を主張する

国 名 (その国において又はその国 について先の出願がされた)	先 の 出 願 の 出 願 日 (日. 月. 年)	先 の 出 願 の 出 願 番 号	先の出願を受理した官庁名 (広域出願又は国際出 願の場合のみ記入)
(1) 日本国 Japan	23.05.97	平成9年特許願 第134182号	
(2)			
(3)			

先の出願の認証謄本が、本件国際出願の受理官庁（日本国特許庁）で発行される場合であって、優先権書類送付請求書を本件国際出願に添付するときは、次の□に
レ印を付すこと。

☒ 上記()の番号の先の出願のうち、次の()の番号のものについては、出願書類の認証謄本を
作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁（日本国特許庁の長官）に対して請求している。(1)

第 VII 欄 国際調査機関

国際調査機関 (ISA) の選択

ISA / J P

先の調査 上記国際調査機関による別の調査（国際・国際型又はその他）が既に実施又は請求されており、可能な限り当該調査の結果を今回の国際調査の基
礎とすることを請求する場合に記入する。先の調査に関連する出願（若しくはその翻訳）又は関連する調査請求を表示することにより、当該先の調査又は請求を特定
する。

名（又は広域官庁）

出願日（日. 月. 年）

出願番号

第 VIII 欄 照合欄

この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。

- | | |
|----------|------|
| 1. 願書 | 4 枚 |
| 2. 明細書 | 32 枚 |
| 3. 請求の範囲 | 2 枚 |
| 4. 要約書 | 1 枚 |
| 5. 図面 | 5 枚 |
| 合計 | 44 枚 |

この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。

- | | |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| 1. <input checked="" type="checkbox"/> 別個の記名押印された委任状 | 5. <input checked="" type="checkbox"/> 手数料計算用紙 |
| 2. <input type="checkbox"/> 包括委任状の写し | <input checked="" type="checkbox"/> 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面 |
| 3. <input type="checkbox"/> 記名押印（署名）の説明書 | <input checked="" type="checkbox"/> 国際事務局の口座への振込みを証明する書面 |
| 4. <input type="checkbox"/> 優先権書類（上記第 VI 欄の
() の番号を記載する）: | 6. <input type="checkbox"/> 寄託した微生物に関する書面 |
| | 7. <input checked="" type="checkbox"/> スクレオチド及び/又はアミノ酸配列リスト
(フレキシブルディスク) |
| | 8. <input checked="" type="checkbox"/> その他（例えば、優先権書類送付請求書と具体的に
記載する）: |

優先権書類送付請求書、陳述書、
フレキシブルディスクの記録形式等の情報を記載した書面

要約書とともに公表する図として 第 _____ 図 を提示する（図面がある場合）

第 IX 欄 提出者の記名押印

人の氏名（名称）を記載し、その次に押印する。

青山 葆



受理官庁記入欄

1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日	2. 図面 <input type="checkbox"/> 受理された <input type="checkbox"/> 不足図面がある
3. 国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であって その後期間内に提出されたものの実際の受理の日（訂正日）	
4. 特許協力条約第 11 条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
5. 出願人により特定された 国際調査機関 ISA / J P	
6. <input type="checkbox"/> 調査手数料未払いにつき、国際調査機関に 調査用写しを送付していない	

国際事務局記入欄

記録原本の受理の日

P C T

手数料計算用紙

願書附属書

受理官庁記入欄

国際出願番号

出願人又は代理人の書類記号

660807

受理官庁の日付印

出願人

遠藤 仁

所定の手数料の計算

1. 及び 2. 特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律（国内法）
第18条第1項第1号の規定による手数料（注1）
（送付手数料【T】及び調査手数料【S】の合計）

95,000 円 T+S

3. 国際手数料（注2）

基本手数料

国際出願に含まれる用紙の枚数 44 枚

最初の30枚まで

55,000 円 b1

14 × 1,300 =

18,200 円 b2

30枚を超える用紙の枚数 用紙1枚の手数料

b1及びb2に記入した金額を加算し、合計額をBに記入

73,200 円 B

指定手数料

国際出願に含まれる指定数（注3） 73

11 × 12,700 =

139,700 円 D

支払うべき指定手数料
の数（上限は11）
（注4）

1指定当たり
の手数料
（円）

B及びDに記入した金額を加算し、合計額をIに記入

212,900 円 I

4. 納付すべき手数料の合計

T+S及びIに記入した金額を加算し、合計額を合計に記入

307,900 円

合 計

（注1）送付手数料及び調査手数料については、合計金額を特許印紙をもって納付しなければならない。

（注2）国際手数料については、受理官庁である日本国特許庁の長官が告示する国際事務局の口座への振込みを証明する書面を提出することにより納付しなければならない。

（注3）願書第V欄でレ印を付した□の数。

（注4）指定数を記入する。ただし、11指定以上は一律11とする。

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 660807	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/02171	国際出願日 (日.月.年) 18.05.98	優先日 (日.月.年) 23.05.97
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁴ C12N15/12, C12N15/63, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, C12P21/08		
出願人 (氏名又は名称) 遠藤 仁		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
 - ☒ 国際予備審査報告の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 - ☐ 発明の単一性の欠如
 - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☒ ある種の引用文献
 - ☐ 国際出願の不備
 - ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 28.09.98	国際予備審査報告を作成した日 29.06.99	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 深草 亜子 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4 B 9548

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲	2, 7, 10-17	有
請求の範囲	1, 3-6, 8, 9	無

進歩性(IS)

請求の範囲		有
請求の範囲	1-17	無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲	1-17	有
請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1, 3-6, 8, 9は、国際調査報告で引用された文献1 (Lopez-Nieto, C. E., et al. "Molecular cloning and characterization of NKT, a gene product related to organic cation transporter family that is almost exclusively expressed in the kidney", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 10 (07.03. 1997), pp. 6471-6478) に記載されているので新規性を有しない。文献1には、本願の配列表1及び2で示されるアミノ酸配列と相同性の高いアミノ酸配列を有するタンパク質、それをコードする遺伝子が記載されている。

請求の範囲2, 7, 10-17は、文献1により進歩性を有しない。文献1記載のタンパク質やそれをコードするタンパク質の類縁体をヒトから得ること、文献1記載の遺伝子をプラスミドに組み込んで得られた組換えプラスミドで形質転換した宿主を製造すること、文献1記載の遺伝子の一部をプローブとして使用すること、文献1記載のタンパク質に対する抗体を製造すること、文献1記載のタンパク質を用いてスクリーニングを行うことは、遺伝子工学における周知技術の適用にすぎず、当業者が容易になし得ることと認められる。

VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号
特許番号公知日
(日. 月. 年)出願日
(日. 月. 年)優先日 (有効な優先権の主張)
(日. 月. 年)

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類

書面による開示以外の開示の日付
(日. 月. 年)書面による開示以外の開示に言及している
書面の日付 (日. 月. 年)

DDBJ, LOCUS;AA269606

26. 03. 97

DDBJ, LOCUS;AA124333

13. 02. 97

DDBJ, LOCUS;W34761

13. 05. 96

DDBJ, LOCUS;R25797

24. 04. 95

DDBJ, LOCUS;R46796

22. 05. 95

〒532-0031
大阪市淀川区加島 3-16-89

田辺製薬株式会社
特許センター 御中
(ご担当: 中田 様)

平成 11 年 3 月 8 日

青山特許事務所

〒540-0001 大阪市中央区城見 1 丁目 3 番 7 号
IMPビル16階

郵便: 〒530-8691 大阪中央郵便局私書箱16号
電話: (06) 6949-1261 (代表)
電子メール: info@aoyamapat.gr.jp (代表)
ファクシミリ: (06) 6949-0361 (G3) / (06) 6949-0362 (G4)

担当: 田村 恭生
(ダイヤルイン: 06-6949-6631)

EPO FORM 1201

貴社 No. : 00-573-CT
当所 No. : 660807
国 別 : PCT
種 別 : 特許
出願 No. : PCT/J P 98/02171
名 称 : 有機陰イオントランスポーターおよびその遺伝子

前略:

別紙の通り EPO より本件の EPO での出願番号等を連絡する EPO FORM 1201 が参りましたので、お送り致します。

草々

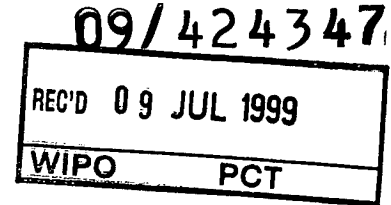
添付書類: EPO FORM 1201

1 通

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]



出願人又は代理人 の書類記号 660807	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/02171	国際出願日 (日.月.年) 18.05.98	優先日 (日.月.年) 23.05.97
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁶ C12N15/12, C12N15/63, C07K14/47, C07K16/18, C12Q1/68, C12P21/08		
出願人 (氏名又は名称) 遠藤 仁		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
 - ☒ 国際予備審査報告の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 - ☐ 発明の単一性の欠如
 - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☒ ある種の引用文献
 - ☐ 国際出願の不備
 - ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 28.09.98	国際予備審査報告を作成した日 29.06.99	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 深草 亜子	4B 9548
電話番号 03-3581-1101 内線 3448		

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	2, 7, 10-17	有
	請求の範囲	1, 3-6, 8, 9	無
進歩性(IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-17	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-17	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1, 3-6, 8, 9は、国際調査報告で引用された文献1 (Lopez-Nieto, C. E., et al. "Molecular cloning and characterization of NKT, a gene product related to organic cation transporter family that is almost exclusively expressed in the kidney", The Journal of Biological Chemistry, Vol. 272, No. 10 (07. 03. 1997), pp. 6471-6478) に記載されているので新規性を有しない。文献1には、本願の配列表1及び2で示されるアミノ酸配列と相同性の高いアミノ酸配列を有するタンパク質、それをコードする遺伝子が記載されている。

請求の範囲2, 7, 10-17は、文献1により進歩性を有しない。文献1記載のタンパク質やそれをコードするタンパク質の類縁体をヒトから得ること、文献1記載の遺伝子をプラスミドに組み込んで得られた組換えプラスミドで形質転換した宿主を製造すること、文献1記載の遺伝子の一部をプローブとして使用すること、文献1記載のタンパク質に対する抗体を製造すること、文献1記載のタンパク質を用いてスクリーニングを行うことは、遺伝子工学における周知技術の適用にすぎず、当業者が容易になし得ることと認められる。

VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
--------------	------------------	------------------	------------------------------

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
DDBJ, LOCUS;AA269606	26. 03. 97	
DDBJ, LOCUS;AA124333	13. 02. 97	
DDBJ, LOCUS;W34761	13. 05. 96	
DDBJ, LOCUS;R25797	24. 04. 95	
DDBJ, LOCUS;R46796	22. 05. 95	

